

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES



“Estudio fitoquímico de los extractos [diclorometano (parte 2) y de tetrahidrofurano] de las hojas de *Phthirusa stelis* (L.) Kuijt”

**Br. Laura Yackelin Barillas Castro**

**Tutor: Dr. Carmelo Rosquete Porcar**

**Noviembre, 2021.**

## Contenido.

	Página
Contenido.	ii
Índice de Figuras.	iv
Índice de Tablas.	vi
1. Introducción.	1
2. Marco Teórico.	3
2.1. Antecedentes.	3
2.1.1. Familia Loranthaceae.	3
2.1.1.1. Generalidades de la familia Loranthaceae.	3
2.1.1.2. Distribución geográfica mundial de la familia Loranthaceae.	4
2.1.2. Género <i>Phthirusa</i> .	4
2.1.2.1. Generalidades del género <i>Phthirusa</i> .	4
2.1.2.2. Distribución geográfica mundial del género <i>Phthirusa</i> .	5
2.1.2.3. Distribución geográfica en Venezuela del género <i>Phthirusa</i> .	7
2.1.3. <i>Phthirusa stelis</i> (L). Kuijt.	8
2.1.3.1. Generalidades de <i>Phthirusa stelis</i> (L). Kuijt.	8
2.1.3.2. Distribución geográfica mundial del género <i>Phthirusa stelis</i> (L). Kuijt.	8
2.1.3.3. Distribución geográfica en Venezuela del género <i>Phthirusa stelis</i> (L). Kuijt.	9
3. Antecedentes.	10
3.1. Etnomedicina del género <i>Phthirusa</i> .	10
3.2. Farmacología del género <i>Phthirusa</i> .	11
3.3. Fitoquímica del género <i>Phthirusa</i> .	12
4. Justificación.	20
5. Hipótesis.	20
6. Objetivos.	20
6.1. Objetivo general.	20
6.2. Objetivos específicos.	19
7. Técnicas de separación, purificación e identificación de los componentes del extracto de tetrahidrofurano.	21
7.1. Técnicas de separación y purificación utilizadas.	21
7.1.1. Cromatografía de capa fina (CCF).	21
7.1.2. Cromatografía en placa preparativa (CCFP).	22
7.1.3. Cromatografía en columna (CC).	23
7.2. Técnicas de identificación empleadas.	24
7.2.1. Punto de fusión.	24
7.2.2. Espectroscopia Infrarroja (FT-IR).	24

7.2.3.	Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN).	25
7.2.3.1.	Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMN-1H).	25
7.2.3.2.	Resonancia magnética nuclear de carbono-13 (RMN-13C).	26
7.2.3.3.	Resonancia Magnética Nuclear bidimensional.	27
7.2.4.	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM).	29
8.	Parte Experimental	30
8.1.	Recolección del material vegetal.	30
8.2.	Clasificación botánica de la especie.	30
8.3.	Estudio bibliográfico de antecedentes.	30
8.4.	Extracción del material botánico.	30
8.5.	Obtención de los extractos.	30
8.5.1.	Estudio del extracto de diclorometano de las hojas de <i>Phthirusa stelis</i> .	31
8.5.2.	Estudio del extracto de tetrahidrofurano de las hojas de <i>Phthirusa stelis</i> .	34
9.	Resultados y discusión.	40
9.1.	Caracterización de los productos.	40
9.1.1.	Identificación mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, de los componentes presentes en CRLB01 y CRLB02.	40
9.1.2.	Elucidación estructural del compuesto CRLB03 mediante técnicas espectroscópicas.	45
9.1.3.	Elucidación estructural del compuesto CRLB04 mediante técnicas espectroscópicas.	53
10.	Conclusiones	59
11.	Recomendaciones	60
12.	Referencias Bibliográficas	61
13.	Glosario	66
Apéndice		67
	Apéndice 1. a) Espectro COSY del compuesto CRLB03, b) Ampliación.	68
	Apéndice 2. a) Espectro HMQC del compuesto CRLB03. b) Ampliación.	69
	Apéndice 3. a) Espectro HMBC del compuesto CRLB03, b) Ampliación (1).	70
	Apéndice 4. c) Espectro HMBC del compuesto CRLB03, Ampliación (2), d) Ampliación (3).	71
	Apéndice 5. e) Espectro HMBC del compuesto CRLB03, Ampliación (4), f) Ampliación (5).	72
	Apéndice 6. Correlaciones $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ relevantes en el espectro HMBC del compuesto CRLB03.	73
	Apéndice 7. a) Espectro NOESY del compuesto CRLB03, b) Ampliación.	71

## Índice de Figuras.

	Página
Figura 1.	Distribución geográfica de la familia Loranthaceae. 4
Figura 2.	Algunas especies del género <i>Phthirusa</i> distribuidas en Venezuela. 5
Figura 3.	Distribución geográfica Mundial del género <i>Phthirusa</i> . 7
Figura 4.	<i>Phthirusa stelis</i> (L) Kuijt. 8
Figura 5.	Distribución geográfica mundial de <i>Phthirusa stelis</i> (L) Kuijt. 9
Figura 6.	Cromatografía de capa fina (CF). 21
Figura 7.	Cromatografía en placa preparativa (CCFP). 23
Figura 8.	Cromatografía en columna. 24
Figura 9.	Correlaciones observables en el experimento COSY. 28
Figura 10.	Correlaciones observables en los experimentos HSQC o HMQC. 28
Figura 11.	Correlaciones observables en el experimento HMBC. 29
Figura 12.	Obtención de los extractos de las hojas de <i>P. stelis</i> . 31
Figura 13.	Estudio parcial del extracto de diclorometano de las hojas de <i>P. stelis</i> . 32
Figura 14.	Esquematzación del trabajo realizado a la fracción F del extracto de diclorometano de las hojas de <i>P. stelis</i> . 34
Figura 15.	Extracto de tetrahidrofurano de las hojas de <i>P. stelis</i> . 35
Figura 16.	Métodos cromatográficos utilizados para la separación de compuestos en CCeTrB. 38
Figura 17.	Esquematzación del trabajo realizado al extracto de tetrahidrofurano de las hojas de <i>P. stelis</i> . 39
Figura 18.	Cromatograma de gases de las muestras: a) CRLB01, b) CRLB02. 40
Figura 19.	Espectro de masas de dotriacontano. 42
Figura 20.	Espectro de masas del 2-(tetradeciloxi)etil éster del ácido palmítico. 42
Figura 21.	Espectro de masas de 3,7,11-trimetil-2,6,10-dodecatrien-1-ol. 43
Figura 22.	Espectro de masas de 7,3',4'-trimetoxiquercetina. 43
Figura 23.	Espectro de masas del 3-tridesil éster del ácido butírico. 44
Figura 24.	Espectro de masas del éster (2-tetrahidrofuril)metílico del ácido valérico. 44
Figura 25.	Espectro infrarrojo del compuesto CRLB03. 45
Figura 26.	Espectro RMN- <sup>1</sup> H del compuesto CRLB03. 46
Figura 27.	Ampliaciones del espectro RMN- <sup>1</sup> H del compuesto CRLB03. a) (5,50-3,80) ppm, b) (2,50-0) ppm. 47
Figura 28.	Espectro RMN- <sup>13</sup> C del compuesto CRLB03. 48
Figura 29.	(a, b, c) Ampliaciones del espectro RMN- <sup>13</sup> C y DEPT del compuesto CRLB03. a) (190-60) ppm. b) (56-40) ppm c) (39-30) ppm. 49

Figura 30.	(d, e, f) Ampliaciones del espectro RMN-13C y DEPT del compuesto CRLB03. d) (30,5-28,5) ppm e) (29-22) ppm, f) (22-5) ppm.	50
Figura 31.	Diagrama molecular de CRLB03 (3 $\beta$ -palmitato de 7 $\beta$ -hidroxiolean-12-eno).	53
Figura 32.	Espectro infrarrojo del compuesto CRLB04.	54
Figura 33.	Espectro RMN- <sup>1</sup> H del compuesto CRLB04.	55
Figura 34.	Ampliaciones de los espectros de RMN- <sup>1</sup> H a campo bajo de: a) 3 $\beta$ -palmitato de 7 $\beta$ -hidroxiolean-12-eno, b) CRLB03, c) CRLB04.	56
Figura 35.	Ampliación del espectro NOESY del compuesto CRLB04.	57
Figura 36.	Diagrama de la correlación del protón H3 del compuesto CRLB04.	58
Figura 37.	Diagrama molecular de CRLB04 (3 $\beta$ -palmitato de 7 $\alpha$ -hidroxiolean-12-eno).	58

www.bdigital.ula.ve

## Índice de Tablas.

	Página
Tabla 1.	Especies reportadas para el género <i>Phthirusa</i> . 5
Tabla 2.	Especies reportadas del género <i>Phthirusa</i> en Venezuela. 7
Tabla 3.	Clasificación taxonómica de <i>Phthirusa stelis</i> (L.) Kuijt. 8
Tabla 4.	Usos médicos reportados para especies del género <i>Phthirusa</i> (Loranthaceae). 10
Tabla 5.	Estudios farmacológicos realizados a algunas especies del género <i>Phthirusa</i> . 11
Tabla 6.	Metabolitos secundarios extraídos de especies del género <i>Phthirusa</i> . 15
Tabla 7.	Resultados de la cromatografía en columna CCeDfF. 32
Tabla 8.	Resultados de la cromatografía CCeDfFrD. 33
Tabla 9.	Resultados de la cromatografía CCeDfFrD6. 33
Tabla 10.	Resultados del percolado CCeT. 35
Tabla 11.	Resultados de la cromatografía en columna CCeTrB. 36
Tabla 12.	Resultados de la CCFP realizada a CCeTrB1. 37
Tabla 13.	Resultados de la cromatografía en columna CCeTrB2. 37
Tabla 14.	Resultados de la cromatografía en columna CCeTrB4. 38
Tabla 15.	Compuestos contaminantes identificados por CG/EM en las muestras CRLB01 y CRLB02. 41
Tabla 16.	Bandas de absorción en el espectro infrarrojo del compuesto CRLB03. 45
Tabla 17.	Desplazamientos químicos de los carbonos en RMN- <sup>13</sup> C de CRLB03, CRLB04 y el compuesto de referencia. 52
Tabla 18.	Bandas de absorción en el espectro infrarrojo del compuesto CRLB04. 54
Tabla 19.	Desplazamientos químicos de los hidrógenos H3, H7 y H12 del compuesto de referencia, CRLB03 y CRLB04. 55

## 1. Introducción.

Los productos naturales se originan desde tiempos antiguos, el hombre de la edad de piedra recolectaba plantas para alimentarse y curarse. Los extractos de plantas han sido utilizados en pócimas para inducir curaciones y/o aliviar dolencias, con fundamento en la creencia popular, de acuerdo a su forma, color o el hábitat (Marcano y Hasegawa, 2002).

Con el interés que ha despertado la medicina naturista a diario crece el número de escritos que ilustran la utilidad de las plantas para el tratamiento de diversas afecciones. El interés ha evolucionado hacia el estudio científico de los componentes y los efectos de las plantas que tradicionalmente muestran actividades biológicas interesantes y con ellos la circulación de una serie de publicaciones periódicas reconocidas (Marcano y Hasegawa, 2002).

En la actualidad, gracias a la visión ecologista que se ha dado a las nuevas generaciones de personas, existe una tendencia a mantener y atesorar las especies de plantas mediante la conservación de los bosques, las selvas, los parques naturales y los estuarios marinos, entre otros. No obstante, además de producir sustancias como los carbohidratos, las proteínas y las grasas, que los investigadores han denominado metabolitos primarios, dado que se encuentran en prácticamente todas las formas de vida y cumplen funciones básicas para la misma, existen otras sustancias que no se encuentran distribuidas tan ampliamente y que se hallan restringidas solo a ciertas especies, géneros o familias como son los alcaloides, las saponinas, esteroides, los terpenoides y flavonoides, entre otros, a los cuales se les denomina metabolitos secundarios (Martínez, 2005).

Las propiedades medicinales de las plantas se deben a la presencia de metabolitos secundarios los cuales presentan una actividad fisiológica en el ser humano que les confiere importancia para la prevención y tratamiento de determinadas patologías; en el pasado no se había logrado explicar la utilidad o el porqué de la presencia de éstos, pero con el tiempo se ha aceptado que jueguen un papel fundamental en la perseverancia de la planta (Castillo y Martínez, 2007).

Por otra parte, *Phthirusa stelis* (L.) Kujit, perteneciente a la familia Loranthaceae, las cuales son un grupo de plantas hemiparásitas muy bien distribuidos en el mundo 73 géneros y alrededor de 900 especies (Russel, et al., 2008). En la medicina tradicional esta planta es usada para tratar reumatismo y hernias inguinales (Sanz y Cañigual, 2011). Estudios farmacológicos

demonstraron que presenta actividad contra la leishmaniasis y la malaria (Valadeau, *et al.*, 2009). En estudios fitoquímicos realizados anteriormente se reporta del extracto hexanoico 3 $\beta$ -palmitato de 6 $\beta$ -hidroxiolean-12-eno; 3 $\beta$ -palmitato de 7 $\beta$ -hidroxiolean-12-eno y lupeol (Morales, 2011). En el estudio del extracto diclorometanoico se reportó 3 $\beta$ -palmitato de + $\beta$ -9877 $\beta$ -hidroxiolean-12-eno, 6,10,14-trimetil-2-pentadecanona, éster metílico del ácido hexadecanoico, ácido kaur-16-en-18-oico, tetradec-1-eno, hexadecan-1-ol, éster metílico del ácido 14-metilpentadecanoico y eicos-1-eno. (Puentes, 2018).

www.bdigital.ula.ve



## **2. Marco Teórico.**

### **2.1. Antecedentes.**

#### **2.1.1. Familia Loranthaceae.**

##### **2.1.1.1. Generalidades de la familia Loranthaceae.**

La familia Loranthaceae conocida como Muérdagos, son un grupo de plantas hemiparásitas muy bien distribuidos en el mundo (73 géneros y alrededor de 900 especies). Tres generadores monotípicos considerados reliquias son parásitos de la raíz. La familia es diversa en áreas tropicales, pero también se encuentran representantes en hábitats templados (Russel y Nickrent, 2008).

La hay en las siguientes formas: Arbustos hemiparásitos, colgantes, redondeados, erectos, suberectos o bejucosos, sobre troncos, ramas y ramillas de árboles o arbustos leñosos; tallos redondeados o aplanados con o sin pubescencia, con o sin catáfilas: hojas bien desarrolladas de consistencia coriácea, carnosa o subcamosa, verde o verdeamarillenta a negruzcas, en ocasiones reducidas a escamas alternas; flores bisexuales o unisexuales (por lo tanto individuos dióicos) solitarias o en inflorescencias racemosas. cimosas, paniculadas o en espigas; perianto de 3 a 6 piezas; estambres de 3 a 6; ovario ínfero; fruto una baya o drupa con una sola semilla envuelta de una sustancia mucilaginosa (Calderón, 1979).

La familia Loranthaceae abunda sobre todo en las regiones tropicales y subtropicales, más algunas habitan en las partes más frías, como las altas montañas. Viven de preferencia al sol, pocas apreciando la sombra, conteniendo abundantes elementos mecánicos de sostén, y células preservantes de agua, casi todas poseen clorofila, la dispersión de las bayas es efectuada por los pájaros razón por la cual de llamarse en Venezuela “pajarito” (Toledo, 1978).

Su importancia económica hasta ahora radica en el hecho de considerárseles plagas de especies de interés económico como cítricos, café, cacao, guamos, guayabos, aguacates, etc. (Dueñas y Roselli., 2001).

### 2.1.1.2. Distribución geográfica mundial de la familia Loranthaceae.

La familia tiene una amplia distribución especialmente en el hemisferio sur. Es principalmente subtropical y tropical evitando la zona más seca (ver figura 1) (Henning, 2008).

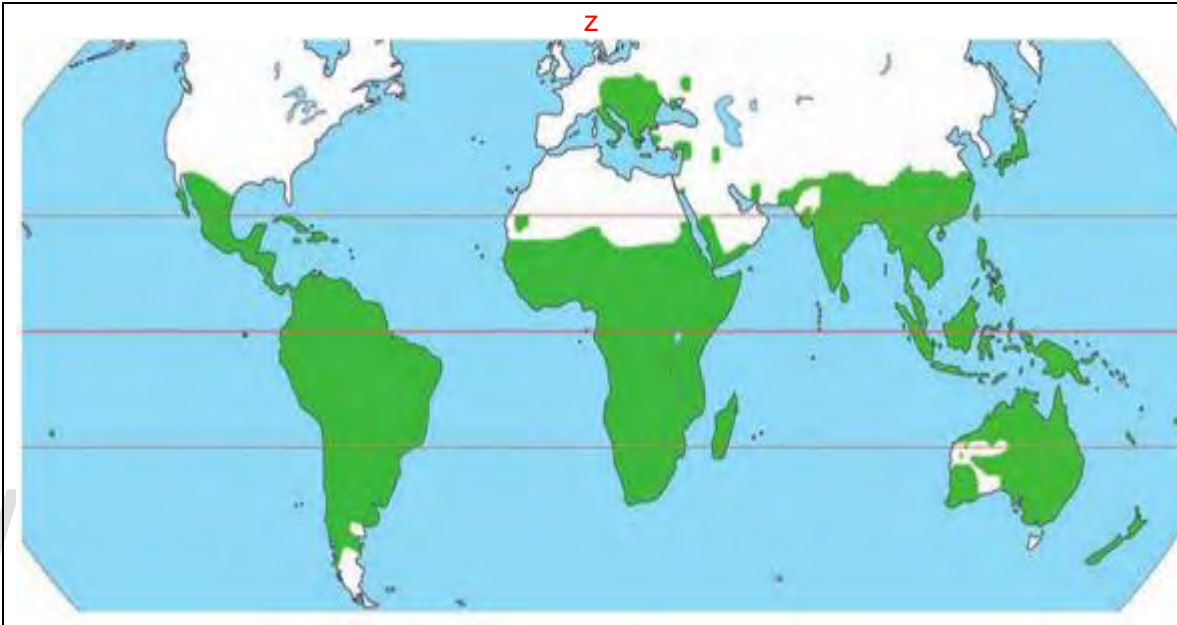


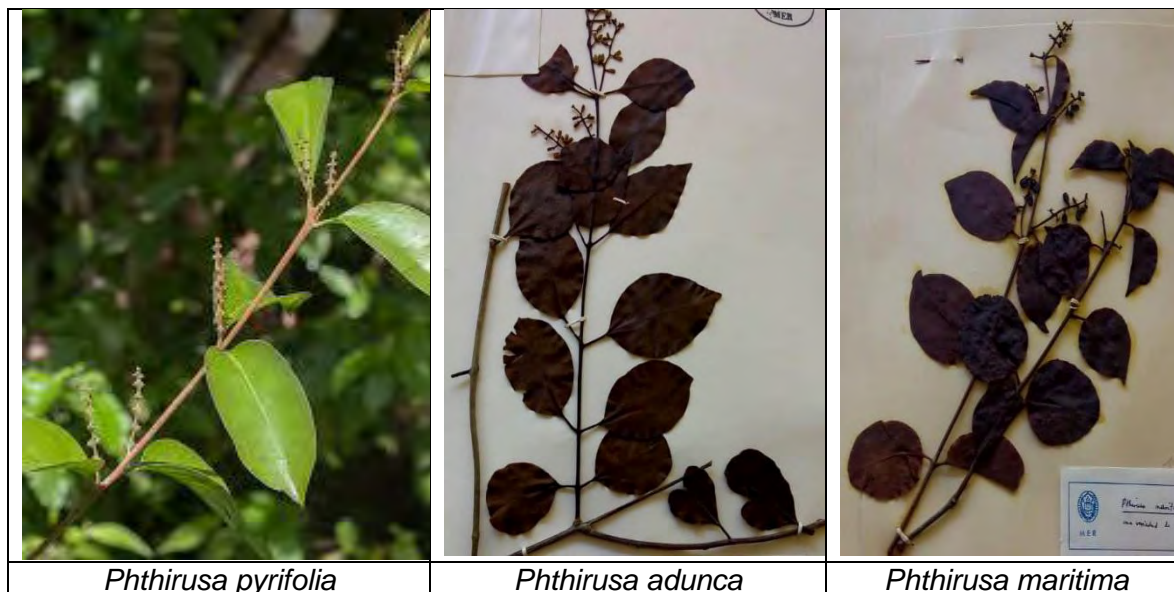
Figura 1. Distribución geográfica de la familia Loranthaceae.

### 2.1.2. Género *Phthirusa*.

#### 2.1.2.1. Generalidades del género *Phthirusa*.

Plantas con hábito escandente y con raíces aéreas o erectas y sin ellas. No hay órganos prensiles en ninguna especie en las ramas jóvenes, pero frecuentemente las ramitas presentan escamillas muy diminutas de color ferrugíneo; lo que también ocurre en las inflorescencias y otras partes. Hojas opuestas, coriáceas. Flores en tríades o a veces aisladas una de las otras, agregadas en racimos, espigas corimbos, glomérulos, muy raramente solitarias en las axilas de las hojas; debajo de las flores en las tríades hay una cúpula de tres brácteas connadas. Botones florales ovoideos o elipsoidales y más o menos angulosos; aunque se muestren ligeramente engrosados en el ápice no son típicamente clavados. Flores de 1-6 mm de largo, sésiles, hexámeras, en algunas especies 4-5 meras,

unisexuales, con vestigios del otro sexo, raras a veces hermafroditas (ver figura 2) (Toledo, 1982).



*Phthirusa pyrifolia*

*Phthirusa adunca*

*Phthirusa maritima*

**Figura 2.** Algunas especies del género *Phthirusa* distribuidas en Venezuela.

### 2.1.2.2. Distribución geográfica mundial del género *Phthirusa*.

Se conocen 125 especies (ver tabla 1) ampliamente diseminadas por los trópicos del Nuevo Mundo (figura 3).

**Tabla 1.** Especies reportadas para el género *Phthirusa*.

Especie	Especie
<i>P. abdita</i> S. Moore	<i>P. montana</i> Engl.
<i>P. adenostemon</i> Eichler	<i>P. murcae</i> Rizzini
<i>P. adunca</i> (G. Mey) Maguire	<i>P. myrsinites</i> Eichler
<i>P. alata</i> (Tiegh) Engl.	<i>P. nitens</i> (Mart.) Eichler
<i>P. alternifolia</i> Eichler	<i>P. oligantha</i> (Urb.) Urb.
<i>P. amazonensis</i> Weir	<i>P. orbicularis</i> (Kunth) Rusby ex De Wild
<i>P. anastyla</i> Rizzini	<i>P. orinocensis</i> (Spreng.) Eichler
<i>P. badilloi</i> G. Ferrari	<i>P. ovata</i> (Pohl ex DC.) Eichler
<i>P. bauhiniiae</i> S. Moore	<i>P. paniculata</i> (Kunth) J.F. Macbr.
<i>P. bernardiana</i> Rizzini	<i>P. papillosa</i> Pilg.
<i>P. bicolor</i> (Krug & Urb.) Engl.	<i>P. parvifolia</i> (SW.) Eichler
<i>P. bisexualis</i> Rizzini	<i>P. pauciflora</i> (SW.) Eichler
<i>P. bistrata</i> Urb.	<i>P. pedicularis</i> Rizzini
<i>P. brasiliensis</i> Weir	<i>P. percrassa</i> Rizzini
<i>P. caatingae</i> Rizzini	<i>P. perdivergens</i> Rizzini
<i>P. callosoalbida</i> Rizzini	<i>P. perforata</i> Rizzini
<i>P. caribaea</i> (Krug & Urb.) Engl.	<i>P. phaeoclados</i> Eichler
<i>P. castillana</i> Rizzini	<i>P. phanerolama</i> Standl.
<i>P. caucana</i> Eichler	<i>P. picardae</i> (Krug & Urb.) Engl.
<i>P. clandestina</i> Mart.	<i>P. pittieri</i> K. Krause

<i>P. coarctata</i> A.C. Sm.	<i>P. platyclada</i> Ule
<i>P. cochliostyla</i> Ule	<i>P. podoptera</i> (Charm. & Schltld.) Kuijt
<i>P. constantiae</i> (Krug & Urb). Engl.	<i>P. polystachya</i> Eichler
<i>P. cothurnata</i> Rizzini	<i>P. portoricensis</i> (D.C.) Eichler
<i>P. cubensis</i> (Griseb.) Eichler	<i>P. psilabotrys</i> (D.C.) Eichler
<i>P. delicatula</i> Rizzini	<i>P. ptariana</i> Steyerem.
<i>P. disjunctifolia</i> (Rizzini) Kuijt	<i>P. punctata</i> Gleason
<i>P. domingensis</i> (Desv.) Eichler	<i>P. purpurea</i> (L.) Engl.
<i>P. elíptica</i> Rizzini	<i>P. pycnophylla</i> (Krug & Urb.) Urb.
<i>P. elongata</i> Gleason	<i>P. pycnostachya</i> Eichler
<i>P. emarginata</i> (Sw.) Eichler	<i>P. pyramidalis</i> Rizzini
<i>P. erythrocarpus</i> (Mart. ex Schult. & Schult. F. Eichler)	<i>P. pyrifolia</i> (Kunth) Eichler
<i>P. exilis</i> Kuijt	<i>P. retroflexa</i> (Ruiz & Pav.) Kuijt
<i>P. geniculifera</i> Rizzini & A. Mattos	<i>P. rhynchophylla</i> (Kuijt) Kuijt
<i>P. gonioclada</i> A.C.Sm.	<i>P. robusta</i> Rusby
<i>P. gracilis</i> Gleason	<i>P. roraimensis</i> Steyerem.
<i>P. guadalupensis</i> Eichler	<i>P. rostrata</i> (Urb.) Urb.
<i>P. guyanensis</i> Eichler	<i>P. rubromicans</i> Rizzini
<i>P. harrisii</i> (Urb.) Fawc. & Rendle	<i>P. rufa</i> (Mart. Ex Schult & Schult. F.) Eichler
<i>P. heterophylla</i> Rusby	<i>P. salicifolia</i> G. Don
<i>P. hippocrateoides</i> Steyerem. & Maguire	<i>P. sandwithii</i> Maguire
<i>P. huberi</i> Rizzini	<i>P. santaremensis</i> Eichler
<i>P. hutchisonii</i> (Kuijt) Kuijt	<i>P. santessoniana</i> Rizzini
<i>P. incospicua</i> (Benth.) Eichler	<i>P. savannarum</i> Maguire
<i>P. inorna</i> (B.L.Rob. & Greenm.) Kuijt	<i>P. schneeana</i> G. Ferrari
<i>P. intermedia</i> Rizzini	<i>P. seitzii</i> Krug & Urb.
<i>P. iodocarpa</i> Diels	<i>P. siegeri</i> Leonard
<i>P. jamaicensis</i> Krug & Urb.	<i>P. sintenissi</i> (Krug & Urb.) Engl.
<i>P. janeirensis</i> Eichler	<i>P. squamulosa</i> Eichler
<i>P. krukovii</i> A.C.Sm.	<i>P. stelis</i> (L.) Kuijt
<i>P. laxiflora</i> (Desv.) Eichler	<i>P. stenophylla</i> Eichler
<i>P. lenticellata</i> Diels	<i>P. steyermarkiana</i> Rizzini
<i>P. lepidobotrys</i> (Griseb.) Eichler	<i>P. subcorymbosa</i> Rizzini
<i>P. lobatae</i> G. Ferrari	<i>P. subsessilis</i> (Urb.) Urb.
<i>P. lucarquensis</i> G. Don	<i>P. theloneura</i> Eichler
<i>P. macrophylla</i> (Kuijt) Kuijt	<i>P. theobromae</i> (Willd.) Eichler
<i>P. maculata</i> Rizzini	<i>P. tortuosa</i> A.C.Sm.
<i>P. magdalenae</i> (Cham. & Scbltdl.) Eichler	<i>P. trichodes</i> Rizzini
<i>P. marítima</i> Rizzini	<i>P. triplinervis</i> Killip
<i>P. megathermica</i> (Rizzini) Rizzini	<i>P. uniflora</i> (Jacq.) Eichler
<i>P. micrantha</i> Eichler	<i>P. verruculosa</i> Rizzini
<i>P. microphylla</i> (Krunth) Blume	<i>P. virginata</i> (Mart. Ex Schult & Schult. F.) Eichler
<i>P. monetaria</i> Sandwith	



Figura 3. Distribución geográfica Mundial del género *Phthirus*.

### 2.1.2.3. Distribución geográfica en Venezuela del género *Phthirus*.

En Venezuela se han reportado 18 especies hasta ahora (Toledo, 1982). (Ver Tabla 2)

Tabla 2. Especies reportadas del género *Phthirus* en Venezuela.

Especie	Estado
<i>P. adunca</i>	Amazonas, Apure, Aragua, Barinas, Bolívar, Carabobo, Cojedes, Falcón, Guárico, Lara, Miranda, Táchira, Trujillo, Yaracuy, Zulia.
<i>P. anastyla</i>	Falcón
<i>P. badilloi</i>	Aragua, Miranda.
<i>P. bernardiana</i>	Bolívar.
<i>P. elongata</i>	Bolívar.
<i>P. lobaterae</i>	Táchira.
<i>P. maculata</i>	Bolívar.
<i>P. marítima</i>	Carabobo, Falcón.
<i>P. megathermica</i>	Amazonas.
<i>P. micrantha</i>	Bolívar.
<i>P. myrsinites</i>	Amazonas
<i>P. pedicularis</i>	Apure.
<i>P. perforata</i>	Amazonas.
<i>P. pyramidalis</i>	Miranda.
<i>P. pyrifolia</i>	Amazonas, Aragua, Bolívar, Lara, Mérida, Miranda, Sucre, Táchira, Trujillo, Yaracuy, Zulia.
<i>P. roraimensis</i>	Bolívar.
<i>P. schneeana</i>	Aragua, Guárico.
<i>P. trichodes</i>	Lara, Portuguesa.



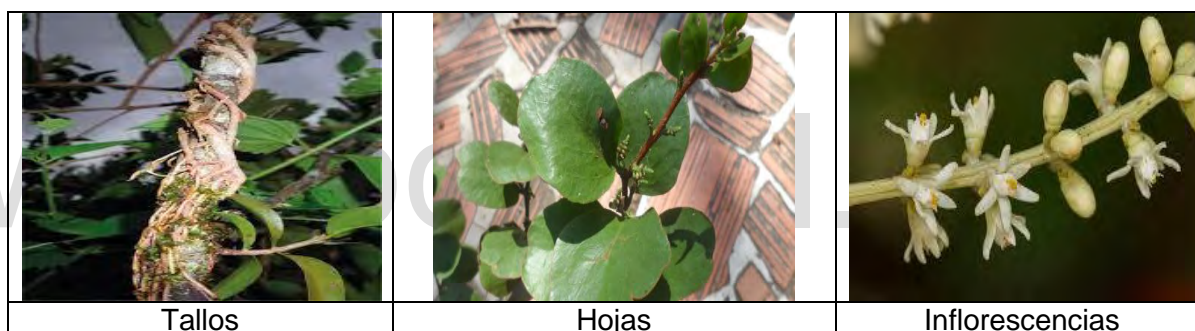
### 2.1.3. *Phthirusa stelis* (L.) Kuijt.

**Tabla 3.** Clasificación taxonómica de *Phthirusa stelis* (L.) Kuijt.

Reino	Plantae
División	Magnoliophytida
Clase	Magnoliopsida
Orden	Santalales
Familia	Loranthaceae
Género	<i>Phthirusa</i>
Especie	<i>Phthirusa stelis</i> (L.) Kuijt

#### 2.1.3.1. Generalidades de *Phthirusa stelis* (L.) Kuijt.

*Phthirusa stelis* (L.) Kuijt, familia Loranthaceae, es un arbusto hemiparásito que habita entre los 150-2.000 msnm (ver figura 4), tallo glabro, arraigado al hospedero por medio de haustorios. Hojas simples, alternas u opuestas, oblongoelípticas, glabras, inflorescencia paniculada, terminal flores blanquecinas, fruto drupáceo, rojizo (Cumaná *et al.*, 2010).



**Figura 4.** *Phthirusa stelis* (L.) Kuijt.

#### 2.1.3.2. Distribución geográfica mundial de *Phthirusa stelis* (L.) Kuijt.

Se encuentra distribuida en Centroamérica y el norte de Suramérica (ver figura 5). Hasta ahora, ha sido reportada en Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Guyana, Guayana Francesa, Panamá, Perú, Surinam y Venezuela (Smithsonian Tropical Research Institute, 2006).



**Figura 5.** Distribución geográfica mundial de *Phthirus stelis* (L.) Kujt.

### **2.1.3.3. Distribución geográfica en Venezuela de *Phthirus stelis* (L.) Kujt.**

En Venezuela se ha reportado en todos los estados con excepción del estado Anzoátegui entre los 1.500-2.200 msnm (Hokche, *et al.*, 2008).

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

### 3. Antecedentes.

#### 3.1. Etnomedicina del género *Phthirusa*.

Los usos populares más relevantes reportados para especies pertenecientes al género *Phthirusa* (Loranthaceae) se encuentran condensados en la tabla 4.

**Tabla 4.** Usos médicos reportados para especies del género *Phthirusa* (Loranthaceae).

Especie	Parte usada	Empleo	Referencia
<i>Phthirusa adunca</i>	Hojas	En la población de Iquitos se reporta para el tratamiento de fracturas, luxaciones y para después del parto.	(Vásquez, 1992)
<i>Phthirusa pyrifolia</i>	Hojas y flores	En Colombia se usan como diurético, hipotensor y antiepiléptico el tratamiento de heridas.	(Dueñas y Roselli., 2001).
	Planta entera	En el departamento de Ucayali en Perú, se reporta el uso de cataplasma para el tratamiento de huesos rotos y lesiones musculares, y la decocción para el tratamiento de hernias y trastornos renales.	(Polesna, <i>et al.</i> , 2011)
	Flores y hojas	En la comunidad de Juliao, Rio de Janeiro se reporta para tratar dolores estomacales.	(Veiga, 2015)
<i>Phthirusa robusta</i> y <i>Phthirusa stelis</i>	Hojas	En la población de Yanasha, en Perú se reporta el uso de las hojas en cataplasma para el tratamiento de huesos rotos y úlceras estomacales.	(Valadeau <i>et al.</i> , 2009).
	Hojas	En La comunidad de Yanasha, en la Amazonia Peruana se reportó para el tratamiento de miembros rotos, traumas, hematomas, quistes uterinos. Con tres hojas se realiza un té y	(Valadeau, <i>et al.</i> , 2010)



		se bebe dos veces al día, y se usa en baños de vapor	
Phthirusa stelis	Vástago	En la Amazonia Peruana se reporta para el tratamiento de reumatismo y hernias inguinales.	(Sanz y Cañigueral, 2011)
	Flores y frutos	Los indígenas Kayapó en Brasil preparan una bebida para la disminución de la libido. También se usa durante la maternidad y en el ciclo menstrual.	(Yazbek <i>et al.</i> , 2016)
	Planta entera	En la península de Araya se reporta el uso de baños de la planta para tratar la brasa.	(Pulido, 2017)

### 3.2. Farmacología del género *Phthirusa*.

La farmacología es la ciencia que estudia los medicamentos, sus funciones, sus usos y los efectos que producen en el organismo. Algunos de los estudios realizados que han demostrado la gran variedad de aplicaciones farmacológicas que poseen las especies pertenecientes al género *Phthirusa* se muestran en la tabla 5.

**Tabla 5.** Estudios farmacológicos realizados a algunas especies del género *Phthirusa*.

Especie	Tratamiento	Referencia
<i>Phthirusa robusta</i> y <i>Phthirusa stelis</i>	Actividad contra la malaria, la leishmaniasis y para tratar úlceras estomacales.	(Valadeau <i>et al.</i> , 2009)
<i>Phthirusa pyrifolia</i>	La lectina obtenida de las hojas mostró actividad antimicrobiana, en bacterias gram (+): <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> y <i>Bacillus subtilis</i> ; en bacterias gram (-): <i>Kleibsiella pneumoniae</i> ; y en hongos: <i>Fusarium lateritium</i> y <i>Rhizoctomia solani</i> .	(Costa, <i>et al.</i> , 2010) / (Kabir, <i>et al.</i> , 2014)
<i>Phthirusa pyrifolia</i>	La fructosa-1,6-bifosfato una lectina obtenida de las hojas mostró actividad antimicrobiana, en	(Paiva <i>et al.</i> , 2010)

	bacterias <i>B. subtilis</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>S. faecalis</i> <i>F. lateritium</i> , <i>R. solani</i> .	
<i>Phthirusa pyrifolia</i>	La lectina obtenida de las hojas presentó actividad antimicrobiana frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> y <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>	(Costa, 2009)
<i>Phthirusa adunca</i>	El aceite esencial de las hojas presentó actividad antimicrobiana frente a las bacterias: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Salmonella typhi</i>	(Mora et al., 2011)

### 3.3. Fitoquímica del género *Phthirusa*.

La fitoquímica comprende el estudio de los metabolitos secundarios de origen vegetal y la metodología que se sigue depende de los objetivos de tales estudios. Es una disciplina científica que tiene como objeto el análisis, purificación, elucidación de la estructura y caracterización de las actividades biológicas de diversas sustancias producidas por los vegetales, estudia cada grupo de la planta, desde su estructura química molecular, hasta las propiedades biológicas de los vegetales, realiza revelamientos y análisis de los componentes químicos de las plantas, como los principios activos, los olores, pigmentos, entre otros. (Marcano y Hasegawa, 2002).

Desde el punto de vista fitoquímico, en especies del género *Phthirusa* se reporta la presencia de metabolitos.

- El estudio fitoquímico de *Phthirusa pyrifolia* siguiendo el método de Cain-Bohlmann y usando reactivos de identificación se determinó la presencia de terpenos, saponinas esteroidales, cumarinas, taninos, flavonoides y alcaloides (Reyna et al., 2004).
- El estudio del extracto metanólico de *Phthirusa adunca*, *Phthirusa robusta* y *Phthirusa stelis* reportó trans-4-hidroxi-N-metilprolina, además, para la *Phthirusa adunca* Y *Phthirusa stelis* se reportó N-Prolina; En el extracto

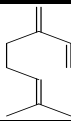
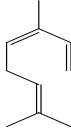
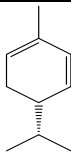
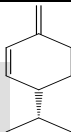
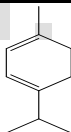
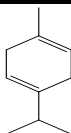
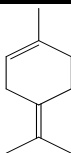
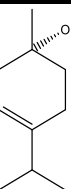
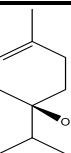
metanólico de *Phthirusa robusta* además también se reporta glicinabetaína (Romero *et al.*, 2007) (Tabla 5).

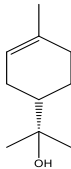
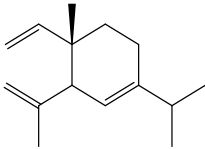
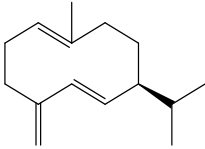



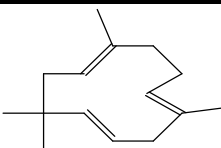
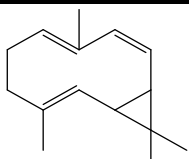
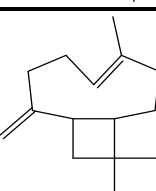
- Rodríguez y colaboradores realizaron el estudio del extracto acuoso de *Phthirusa castillana* determinó la presencia de monoterpenos, alcaloides, saponinas. Por otra parte, el estudio del extracto etanólico determinó la presencia de triterpenos, monoterpenos, alcaloides (Rodríguez *et al.*, 2008).
- El estudio fitoquímico del extracto acuoso de *Phthirusa verruculosa* determinó la presencia de monoterpenos, alcaloides, saponinas. Por otra parte, el extracto de etanólico determinó la presencia de monoterpenos, triterpenos, alcaloides (Rodríguez *et al.*, 2008).
- Mora y colaboradores en 2011 estudiaron el aceite esencial de *Phthirusa adunca* Meyer. Se identificaron 23 compuestos (94,5% de la muestra) de los tres principales (76% de la muestra) fueron  $\beta$ -felandreno (38,1%), germacreno D (26,8%) y  $\beta$ -pineno (11,5%) (Mora *et al.*, 2011) (Tabla 5).
- El estudio del extracto acuoso y de acetato de etilo de las hojas de *Phthirusa pyrifolia* reporta la presencia de fenoles, flavonoides y taninos condensados (Costa *et al.*, 2015).
- Costa y colaboradores en 2016 estudiaron el extracto acuoso de *Phthirusa pyrifolia* reportaron la presencia de fenoles, flavonoides, taninos condensados, proteínas y saponinas. Usando la técnica de cromatografía HPLC y TLC determinaron quercetina (Costa *et al.*, 2016) (Tabla 6).
- El estudio realizado por Llontop y colaboradores de *Phthirusa robusta* determinó la presencia en la fracción clorofórmica de compuestos grasos mediante el ensayo de Sudán y mediante la reacción de Liebermann-Burchard triterpenos y/o esteroides. En la fracción etanólica se identificaron azúcares reductores, triterpenos y/o esteroides, quinonas, glucósidos cardiotónicos, alcaloides, aminoácidos, flavonoides y antocianidinas. En la fracción acuosa se identificaron alcaloides flavonoides, taninos, azúcares reductores y estructuras tipo polisacáridos (Llontop *et al.*, 2018).

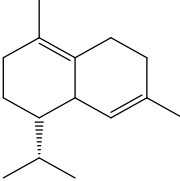
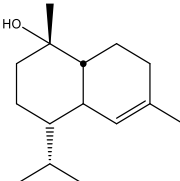
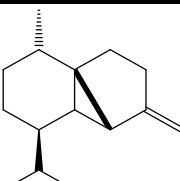
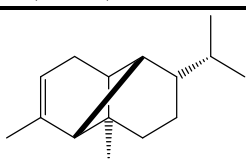
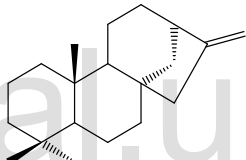
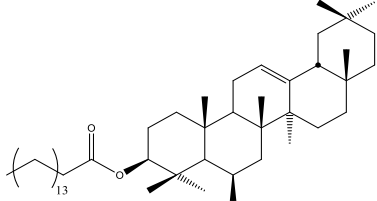
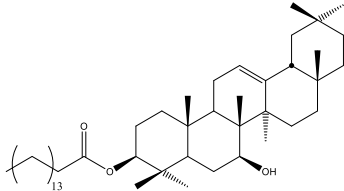
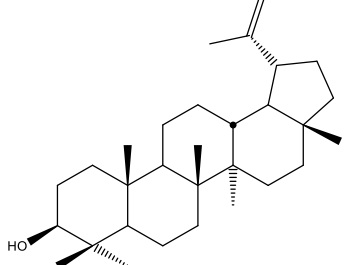
- El primer trabajo fitoquímico de esta especie realizado en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes donde se trataron las hojas de *Phthirusa stelis* (L.) Kuijt (extracto hexano), lográndose separar los compuestos: 3-O-palmitato de olean-12-eno-3 $\beta$ ,6 $\beta$ -diol; 3-O-palmitato de olean-12-eno-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol y lupeol (Morales, 2016) (Tabla 6).
- El segundo trabajo fitoquímico de esta especie realizado en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Universidad de los Andes donde se trataron las hojas de *Phthirusa stelis* (L.) Kuijt (extracto hexano), lográndose separar siete compuestos identificados por cromatografía de gases acoplada a masas, y el compuesto 3-palmitato de olean-12-eno-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol compuestos elucidado usando técnicas espectroscópicas (Puentes, 2018) (Tabla 6).

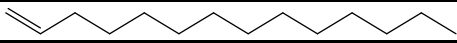
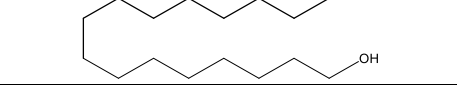
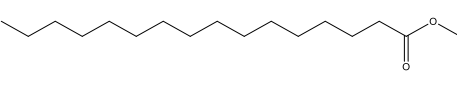
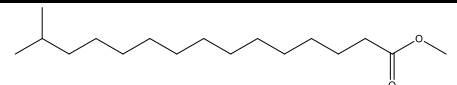
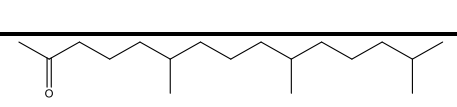
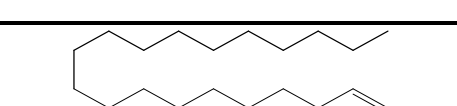
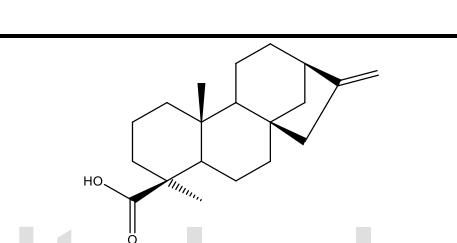
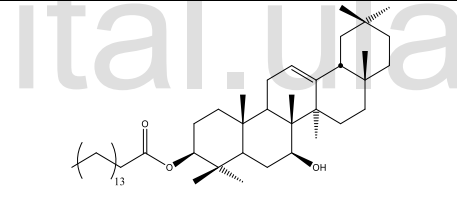
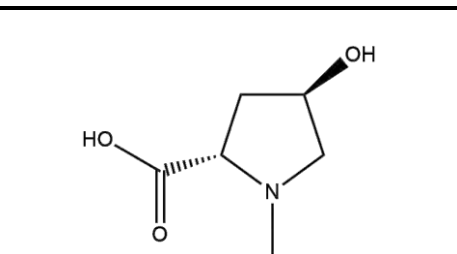
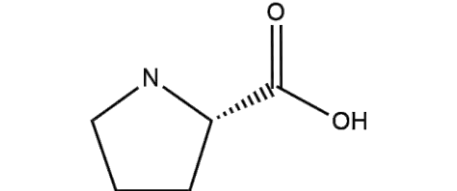
www.bdigital.ula.ve

Tabla 6. Metabolitos secundarios extraídos de especies del género *Phthirusa*.

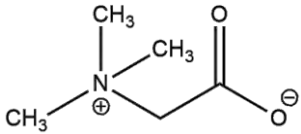
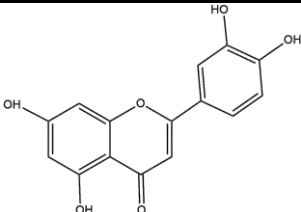
Especie	Parte de la planta	Nombre	Metabolitos identificados	Referencias
<i>Phthirusa adunca</i> Meyer	Hojas/extracto metanol	Mirceno		(Mora et al., 2011)
		<i>trans</i> - $\beta$ -Ocimeno		
		1-Felandreno		
		$\beta$ -Felandreno		
		$\alpha$ -Terpineno		
		$\gamma$ -Terpineno		
		$\alpha$ -Terpinoleno		
		1-Terpineol		
		4-Terpineol		

<p><i>Phthirusa adunca</i> Meyer</p>	<p>Hojas/extracto metanol</p>	<p><math>\alpha</math>-Terpineol</p> 	<p>(Mora et al., 2011)</p>
		<p><math>\delta</math>-Elemeno</p> 	
		<p>Germacreno-D</p> 	
		<p>Sabineno</p> 	
		<p><math>\alpha</math>-Pinenos</p> 	
		<p><math>\beta</math>-Pinenos</p> 	
		<p><math>\alpha</math>-Humuleno</p> 	
		<p>Biciclogermacreno</p> 	
		<p><math>\beta</math>-Cariofileno</p> 	

		$\delta$ -Cadineno		
<i>Phthirusa adunca</i> Meyer	Hojas/extracto metanol	T-Muurolol		(Mora et al., 2011)
		$\beta$ -Cubebeno		
		$\alpha$ -Copaeno		
		Kaur-16-ene		
<i>Phthirusa stelis</i> (L.) Kuijt	Hojas/extracto hexano	3 $\beta$ -Palmitato de olean-12-eno-3 $\beta$ ,6 $\beta$ -diol		(Morales, 2016)
		3 $\beta$ -Palmitato de olean-12-eno-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol		
		Lupeol		

	Hojas/extracto diclorometano	Tetradec-1-eno 	(Puentes, 2018)
		Hexadecan-1-ol 	
		Éster metílico del ácido hexadecanoico 	
<i>Phthirusa stelis</i> (L.) Kujit	Hojas/extracto diclorometano	Ester metílico del ácido 14-metilpentadecanoico 	(Puentes, 2018)
		6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona 	
		Eicos-1-eno 	
		Ácido kaur-16-en-18-oico 	
		3β-Palmitato de olean-12-eno-3β,7β-diol 	
<i>Phthirusa adunca</i> , <i>Phthirusa robusta</i> , <i>Phthirusa stelis</i>	Hojas/extracto metanólico	trans-4- hidroxi-N-metilprolina 	(Romero et al., 2007)
<i>Phthirusa adunca</i> , <i>Phthirusa stelis</i>		N-prolina 	



<i>Phthirus robusta</i>		Glicinbetaína		
<i>Phthirus pyrifolia</i>		Quercetina		(Costa et al., 2016)

www.bdigital.ula.ve

#### **4. Justificación.**

En la medicina popular se reporta el uso de *Phthirusa stelis* para tratar diferentes afecciones, por lo cual es de gran importancia continuar con el estudio fitoquímico de esta especie con el fin de identificar compuestos que pudieran tener interés farmacológico.

#### **5. Hipótesis.**

El extracto de tetrahidrofurano y diclorometano de las hojas de *Phthirusa stelis* (L.) Kujit puede contener compuestos orgánicos tales como: terpenos, taninos y flavonoides, entre otros, de estructuras similares a las reportadas para otros extractos de la planta y/u otras especies del género *Phthirusa*.

#### **6. Objetivos.**

##### **6.1. Objetivo general.**

Identificar y separar los metabolitos secundarios presentes mayoritariamente en la fracción del extracto de diclorometano (no estudiada) y en el extracto de tetrahidrofurano de las hojas de *Phthirusa stelis* (L.) Kujit.

##### **6.2. Objetivos específicos.**

- Separar los metabolitos secundarios presentes en el extracto de tetrahidrofurano de *P. stelis*.
- Separar los metabolitos secundarios presentes en el extracto de diclorometano de *P. stelis*.
- Medir las propiedades físicas (punto de fusión) de los compuestos mayoritarios obtenidos.
- Elucidar las estructuras de los compuestos mayoritarios mediante el uso de técnicas espectroscópicas: infrarrojo, resonancia magnética nuclear (unidimensional y bidimensional,) y espectrometría de masas.

## 7. Técnicas de separación, purificación e identificación de los componentes del extracto de tetrahidrofurano.

### 7.1. Técnicas de separación y purificación utilizadas.

#### 7.1.1. Cromatografía de capa fina (CCF).

Es una adaptación especial de la cromatografía de adsorción en columna muy utilizada en química orgánica ya que entre otras cosas nos permite:

- Determinar el grado de pureza de una muestra.
- Comparar muestras.
- Hacer el seguimiento de una reacción química.
- Controlar el contenido de las fracciones obtenidas por cromatografía en columna.
- Determinar las condiciones más adecuadas para una cromatografía en columna.

La fase estacionaria consiste en una fina capa delgada de gel de sílice o alúmina adherida a un soporte de vidrio, aluminio o materiales plásticos con un grosor entre 1 hasta 0,1-0,2 mm.

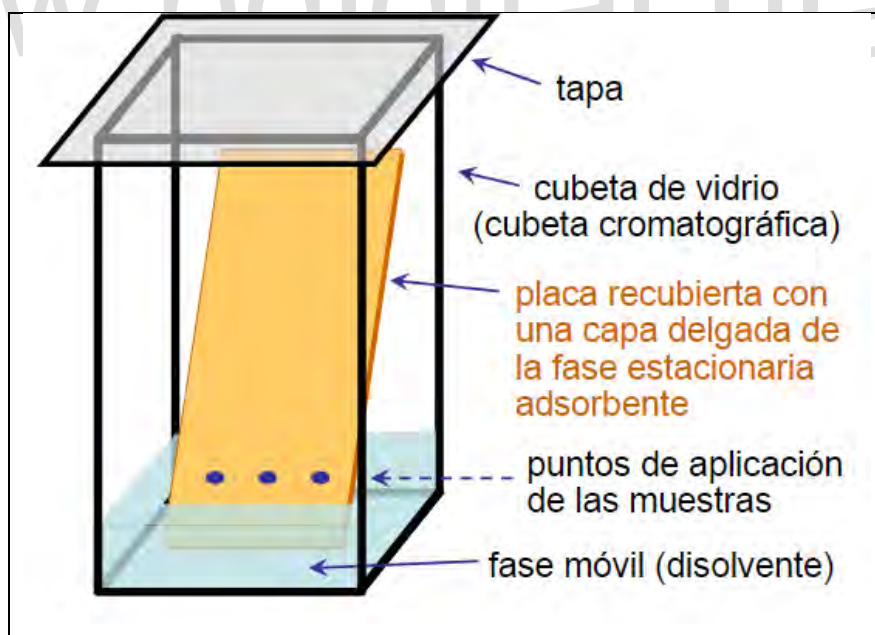


Figura 6. Cromatografía de capa fina (CF).

Esta técnica analítica se utilizó con el fin de monitorear las separaciones realizadas en la cromatografía de columna abierta y al vacío, haciendo uso de placas de gel de sílice sobre soporte de aluminio (Merck HF 254; 0,25 mm de espesor) y otras elaboradas manualmente en placas de 20 x 20 cm con sílica (Merck HF 254; 0,25 mm de espesor). Las placas se desarrollaron en los sistemas de solventes adecuados y se observaron en una lámpara de UV-Vis con longitud de onda 254 nm y 366 nm; luego se revelaron con una mezcla en proporción 20:4:1 de ácido acético-agua-ácido sulfúrico (óleum), calentándolas en placas térmicas a ~ 120 °C por varios minutos hasta la aparición de manchas que indican los constituyentes presentes en la muestra.

### **7.1.2. Cromatografía en placa preparativa (CCFP).**

La cromatografía de capa fina preparativa también se puede usar con fines cuantitativos para separar pequeñas cantidades de un compuesto.

Las separaciones preparativas se realizan en placas estándar de 20 x 20 cm. La muestra se aplica en forma de banda lineal mediante una pipeta Pasteur o con un capilar.

Para la cromatografía de capa fina preparativa (CCFP) se puede utilizar todos los sistemas de disolventes que hemos descrito para la CCF obteniendo los mismos resultados.

Una vez realizada la cromatografía, las bandas de interés se ponen de manifiesto utilizando una técnica no destructiva con el reactivo adecuado (luz UV o yodo).

Continuando con el estudio de *P. stelis*, el extracto seco de las hojas (sin metanol) fue sometido a un percolado (cromatografía de columna con una proporción extracto/adsorbente (1:5-10) en frío utilizando como eluyente los solventes disponibles en el Laboratorio en orden creciente de polaridad; hexano, diclorometano, tetrahidrofurano y metanol; los extractos fueron analizados cualitativamente por medio de cromatografía de capa fina.

Los fundamentos y procedimientos de otras técnicas cromatográficas que pudieran utilizarse en el desarrollo de este TEG se describen a continuación.

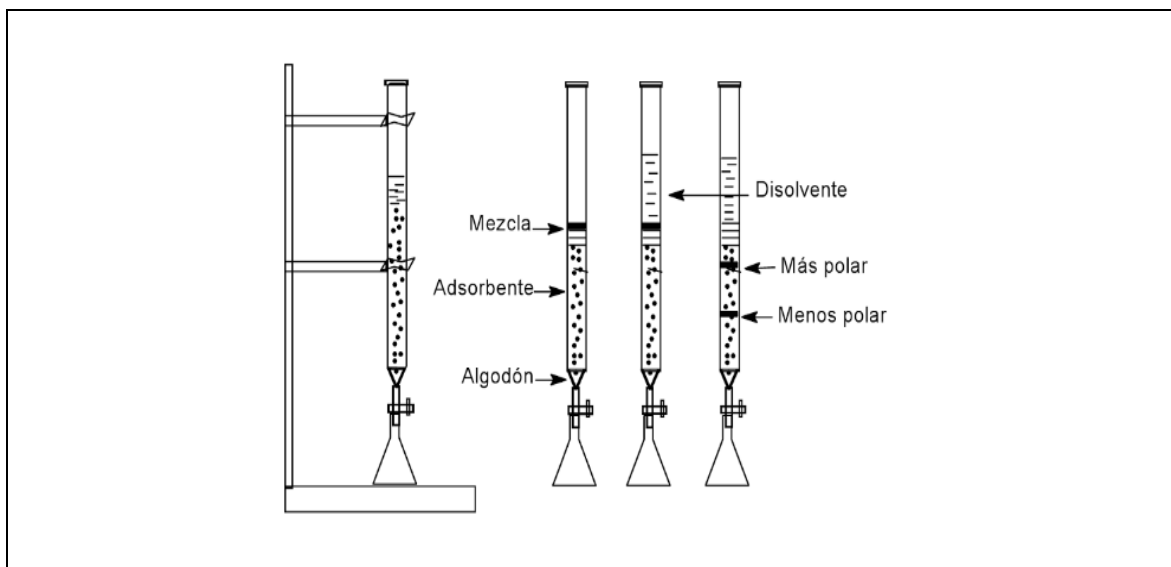


**Figura 7.** Cromatografía en placa preparativa (CCFP).

Se empleó como absorbente sílica gel Merck HF 254 (10 – 40  $\mu\text{m}$ ) depositada sobre placas de vidrio de tamaño 20 x 20 cm y con un espesor de 0,50 mm. Estas fueron preparadas usando 100 mL de agua por cada 300 g de sílice. La fase móvil fue escogida utilizando el sistema más adecuado de separación observado y monitoreado por CCF. Las placas se observaron en una lámpara de UV-Vis (254 y 366 nm). El revelado parcial de las placas se realizó utilizando una solución de óleum (16:10:74) con un calentamiento posterior de las placas cromatográficas sobre las planchas eléctricas.

### **7.1.3. Cromatografía en columna (CC).**

Es una técnica de purificación, puesto que permite aislar los compuestos deseados de una mezcla. La cromatografía en columna utiliza una columna de vidrio o plástico en sentido vertical que se llena con un soporte sólido adsorbente (fase estacionaria: los más utilizados son gel de sílice,  $\text{SiO}_2$ , y alúmina,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ). El tamaño de la columna está determinado por la cantidad de mezcla a separar. La relación de masa de muestra a masa de adsorbente es de 1:100 a 1:500. La muestra que se quiere separar se deposita en la parte superior de este soporte. El resto de la columna se llena con el eluyente (disolvente que constituye la fase móvil) que, por efecto de la gravedad, hace mover la muestra a través de la columna. El funcionamiento y los tipos de CC se muestran en la figura 8 (Bonner y Castro, 1974).



**Figura 8.** Cromatografía en columna.

Se emplearon columnas secas empacadas de diferentes dimensiones según el peso de las muestras, cuya fase fija o adsorbente fue gel de sílice Merck 60 (63-200  $\mu\text{m}$ , 70-230 mesh) y como eluyentes diferentes solventes (hexano, diclorometano, benceno, metanol) o mezclas según fuera el caso con base en el análisis previo. El criterio de selección y desarrollo se fundamentó en experiencias previas y en las técnicas descritas en la bibliografía (Marcano y Hasegawa, 2002).

## 7.2. Técnicas de identificación empleadas.

### 7.2.1. Punto de fusión.

La determinación del punto de fusión de las sustancias identificadas, se realizó a través de un fusiómetro Fisher-Johns del Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias ULA.

### 7.2.2. Espectroscopia Infrarroja (FT-IR).

Es la técnica encargada de indicar las clases de grupos funcionales presentes en un compuesto orgánico, ayudando a conocer su estructura. Esto se debe a las vibraciones moleculares entre los enlaces que experimentan movimientos de estiramiento y de flexión, teniendo en cuenta que todas las moléculas tienen cierta cantidad de energía distribuida en su estructura. El espectrofotómetro de infrarrojo es el encargado de medir frecuencias de la luz infrarroja que son absorbidas por el compuesto (Wade, 2004). Se obtendrá un

espectro colocando las muestras en estado sólidas en pastillas de KBr y las líquidas en celdas de NaCl o en película líquida, las cuales son transparentes a la luz infrarroja y presentará las señales originadas por las muestras sin interferentes. Cada una de las vibraciones de determinado enlace sucede a una frecuencia característica; la radiación infrarroja utilizada será en el rango que va desde  $4.000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al infrarrojo cercano.

La espectroscopia infrarroja permitió identificar los grupos funcionales de los compuestos aislados en base a la longitud de onda de cada grupo funcional, el análisis se realizó en el Laboratorio de Catálisis de la Facultad de Ciencias de la ULA, por el Prof. Pedro Rodríguez y la MSc. Marlin Villarroel, usando un espectrofotómetro con Transformada de Fourier marca Frontier Perkin Elmer modelo RX1 ( $400\text{ cm}^{-1}$  -  $4000\text{ cm}^{-1}$ ) usando celdas con ventanas de NaCl para muestras líquidas.

### 7.2.3. Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

Se basa en la medida de la absorción de la radiación electromagnética en la región de las radiofrecuencias aproximadamente de  $4$  a  $9.000\text{ Hz}$ . En contraste con la absorción UV-visible e infrarroja, en el proceso de absorción están implicados los núcleos de los átomos en vez de los electrones exteriores. Además, es necesario colocar el analito en un intenso campo magnético, con el fin de que aparezcan los estados de energía de los núcleos que hagan posible a la absorción.

Las técnicas más frecuentemente utilizadas para el análisis de compuestos orgánicos son:

- Resonancia magnética nuclear protónica (RMN- $^1\text{H}$ ).
- Resonancia magnética nuclear de carbono-13 (RMN- $^{13}\text{C}$ ).
- Resonancia magnética nuclear bidimensional.

#### 7.2.3.1. Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMN- $^1\text{H}$ ).

La RMN- $^1\text{H}$ , permite obtener un espectro en donde las señales muestran la ubicación (desplazamiento químico) y disposición de los hidrógenos (específicamente isótopos  $^1\text{H}$  cuyo spin es  $\frac{1}{2}$ ) en la molécula analizada. Esto se da en función de la protección o desprotección electrónica que generan los átomos a los cuales estén directamente

enlazados o los átomos adyacentes, permitiendo conocer los ambientes químicos en los que se encuentran los diferentes protones que componen la molécula. Comúnmente se habla de que un espectro de RMN está compuesto de dos regiones: *campo alto* (región hacia la derecha del espectro) donde se ubican las señales de los H con mayor protección electrónica (H en metilos, metilenos, etc.) y *campo bajo* (región a la izquierda del espectro) donde se ubican las señales de los H con mayor desprotección electrónica (aromáticos principalmente). Otro tipo de información que brindan estos espectros, es que las señales pueden verse divididas en función de los hidrógenos vecinos, a lo cual se le denomina acoplamiento. Adicionalmente, el espectro indica la integración, que es la intensidad relativa de cada señal, proporcional al número de protones que la componen. En la mayoría de los casos, da información suficiente para determinar el tipo de esqueleto carbonado, la presencia o ausencia de ciertos grupos funcionales, la posición de sustituyentes y algunos rasgos estructurales específicos, que permiten la asignación de estructuras parciales y hasta totales. La existencia de grupos fenólicos o carboxílicos, los cuales contienen hidrógenos ácidos, pueden detectarse barriendo el espectro hacia campos bajos (>10 ppm) (Silverstein *et al*, 1991).

### 7.2.3.2. Resonancia magnética nuclear de carbono-13 (RMN-<sup>13</sup>C).

El principio es el mismo que para el RMN-<sup>1</sup>H y por lo tanto la información que brinda es muy similar. Las principales diferencias, al compararlo con el espectro de RMN de protón, radican en que los espectros de <sup>13</sup>C son más sencillos, ya que, dependiendo del número de carbonos no equivalentes, las señales aparecen como singuletes. En condiciones normales, en el espectro de <sup>13</sup>C no se observan acoplamientos <sup>13</sup>C-<sup>13</sup>C debido a su baja abundancia natural (aproximadamente 1% de los átomos de carbono en la muestra son magnéticamente activos).

La escala de los desplazamientos químicos en <sup>13</sup>C es mayor, yendo desde 0 hasta un poco más de 200ppm. La integración de las señales en el espectro <sup>13</sup>C no es posible, fenómeno que si ocurre en el espectro de hidrógeno. Como ventaja fundamental se tiene que el espectro de carbono 13 proporciona información directa acerca de los átomos de carbono que componen la molécula.



### 7.2.3.3. Resonancia Magnética Nuclear bidimensional.

Dependiendo de las secuencias de pulsos usadas y de dichos tiempos de espera entre los pulsos se obtienen diferentes espectros, siendo los más usados:

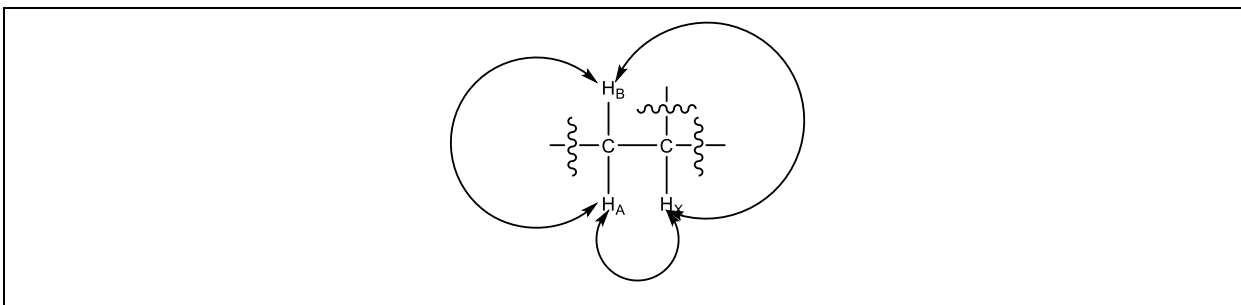
- $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (Correlation Spectroscopy).
- HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy) ó HMBC (Heteronuclear Multiple Quantum Correlation).
- HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation).

#### $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY (CORrelation SpectroscopY).

Es una técnica cuyos espectros aparecen los desplazamientos químicos  $^1\text{H}$  en ambas dimensiones. Es útil para averiguar qué espín está acoplado con otros espines. En los espectros COSY aparecen básicamente dos tipos diferentes de señales. Las de la diagonal (señales o picos diagonales) representan al espectro 1D original, tal y como se obtiene en un espectro 1D. Las señales de afuera de la diagonal constituyen los denominados picos o señales de cruce, que indican la existencia de acoplamientos escalares (a través de los enlaces) entre los núcleos. Los correspondientes núcleos acoplados con ellos se pueden encontrar partiendo de las señales de cruce, trazando líneas horizontales y verticales hasta encontrar la diagonal y éstas son las posiciones de las señales de los núcleos acoplados entre sí.

Describe los patrones de acoplamiento entre protones en una molécula, correlaciona todos los desplazamientos químicos de protones magnéticamente diferentes sobre el mismo carbono (geminales) y sobre carbonos contiguos (vecinales), con lo cual es posible ubicar los protones de están acoplados (figura 9).

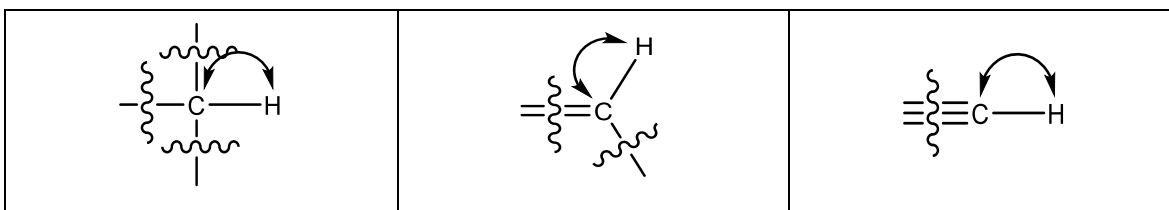
Debido a la simetría del espectro, este procedimiento se puede llevar a cabo tanto en el triángulo superior izquierdo como en el inferior derecho (Duddeck *et al.*...1998).



**Figura 9.** Correlaciones observables en el experimento COSY.

### HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy) ó HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Correlation).

La HSQC detecta las correlaciones entre los núcleos de dos tipos diferentes que están separados por un enlace (figura 10). Este método da una señal por cada par de núcleos acoplados, cuyas dos coordenadas son los desplazamientos químicos de los dos átomos acoplados. La HSQC funciona mediante la transferencia de magnetización desde el núcleo (generalmente del protón) al otro núcleo (por lo general el carbono). La HMQC da un espectro idéntico como HSQC, pero la transferencia de magnetización ocurre del carbono al hidrógeno utilizando un método diferente. Los dos métodos dan resultados similares de calidad para las pequeñas moléculas de tamaño medio, pero HSQC se considera que es superior para moléculas más grandes. Se utilizan con frecuencia en espectroscopia de RMN de moléculas orgánicas y es de particular importancia en el campo de la RMN de proteínas. El experimento se describió por primera vez en 1980. (Bodenhausen y Ruben, 1980).

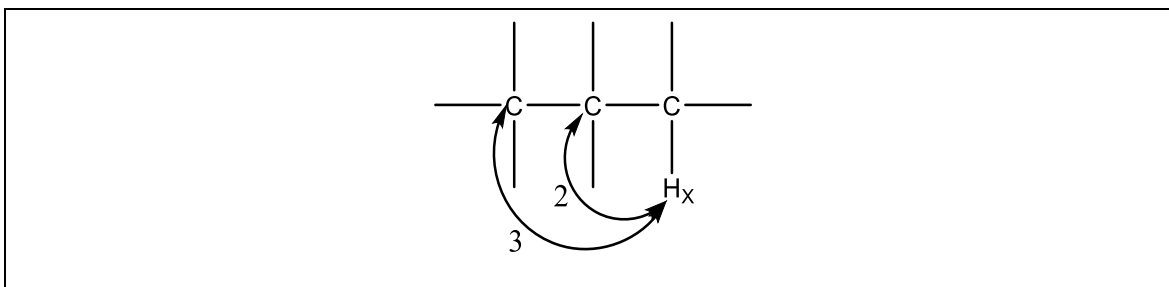


**Figura 10.** Correlaciones observables en los experimentos HSQC o HMQC.

### HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation).

El experimento HMBC establece correlaciones a larga distancia haciendo uso de la mayor sensibilidad asociada a la detección de protón y es en esencia un HMQC "optimizado" para

detectar correlaciones vía acoplamiento pequeños. Los acoplamientos a dos o tres enlaces protón-carbono raramente sobrepasan 25 Hz, y en ausencia de insaturaciones son generalmente inferiores a 5Hz. Hay que tener presente que los acoplamientos a tres enlaces pueden ser, y frecuentemente lo son, de magnitud mayor que los correspondientes a dos enlaces.



**Figura 11.** Correlaciones observables en el experimento HMBC.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear fueron adquiridos en la Universidad Nacional de Córdoba-Argentina, por la Lcda. Andrea Baptista, en un equipo marca Bruker Advance III HD 400WB usando  $\text{CDCl}_3$  (Sigma-Aldrich Co.LLC, 99,96 %),  $\text{D}_2\text{O}$  (Sigma-Aldrich Co.LLC, 99 %) o  $\text{CD}_3\text{OD}$  (Sigma-Aldrich Co.LLC, 99 %) como referencia interna.

#### **7.2.4. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM).**

Los cromatogramas fueron tomados en el Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas de Córdoba (INFIQC) de La Universidad de Córdoba-Argentina, empleando un cromatógrafo de gases acoplado a masas GC-MS Shimadzu QP-5050.

## **8. Parte Experimental.**

### **8.1. Recolección del material vegetal.**

La recolección de la planta se realizó en la confluencia de los ríos Chama y Mucujún (1.480 msnm), sector San Mateo, El Arenal, Municipio Libertador, Estado Mérida-Venezuela. Con coordenadas 8°35'12" latitud norte, 71°8'12" longitud oeste.

### **8.2. Clasificación botánica de la especie.**

Se realizó la clasificación de la planta con ayuda del Profesor Enrique Gámez del Herbario "Carlos Lizcano" de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. El 12 de enero de 2012, la planta se identificó como: *Phthirusa stelis* (L.) Kuijt. Número 001-2012.

### **8.3. Estudio bibliográfico de antecedentes.**

Se realizó una revisión bibliográfica del género *Phthirusa* (Loranthaceae), enfocándonos en el estudio fitoquímico, farmacológico y biológico. La revisión se realizó recurriendo a fuentes de información secundarias, Chemicals Abstract, libros y trabajos originales en fuentes primarias. Sciencedirect y Google académico.

### **8.4. Extracción del material botánico.**

Con el fin de eliminar la humedad y evitar la proliferación de hongos, se extendió el material sobre una superficie y se dejó secar a la sombra a temperatura ambiente por aproximadamente 15 días hasta que estuviera completamente seco. Se procedió a separar las hojas de las ramas, ambas partes fueron reducidas a un polvo fino por medio de un mortero de porcelana tomando una muestra de cada una y realizando pruebas cromatográficas preliminares para informar acerca de los posibles constituyentes químicos y planificar las consecuentes fases de fraccionamiento en extractos y purificación de los compuestos puros (Morales, 2016).

### **8.5. Obtención de los extractos.**

Ambas partes (hojas y ramas) se sometieron por separado a una extracción continua en caliente (soxhlet) utilizando metanol como solvente. Los extractos fueron concentrados al vacío por medio de un rotaevaporador a una temperatura inferior a los 40 °C. Con base en los ensayos cromatográficos preliminares, se procedió a trabajar con el extracto de las hojas, el cual fue sometido a un percolado en frío utilizando como eluyentes hexano (Hx), diclorometano (DCM), tetrahidrofurano (THF) y metanol (MeOH) (Morales, 2016).

Esta actividad fue realizada por la Lcda. Eliam Morales como tema de su TEG y se muestra en la figura 12 (Morales, 2016).

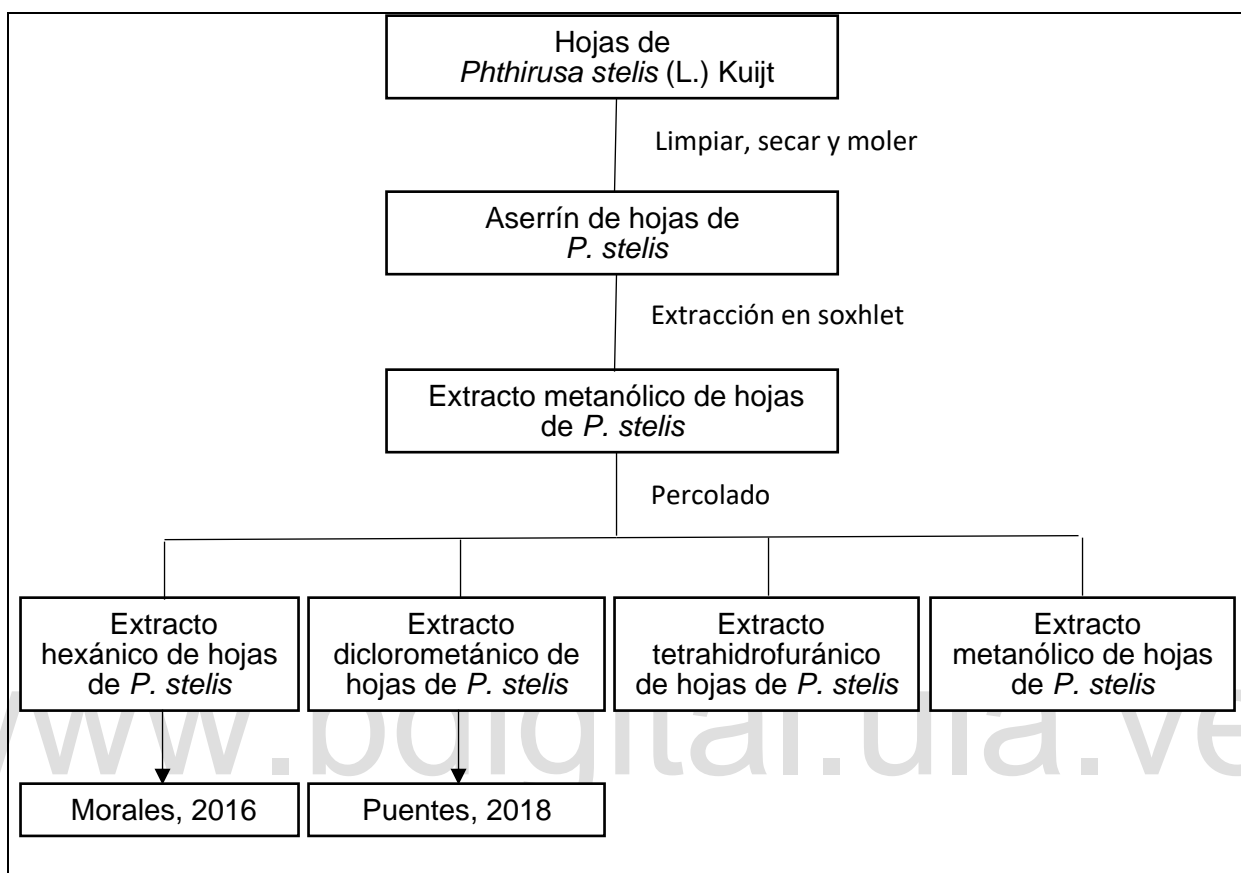
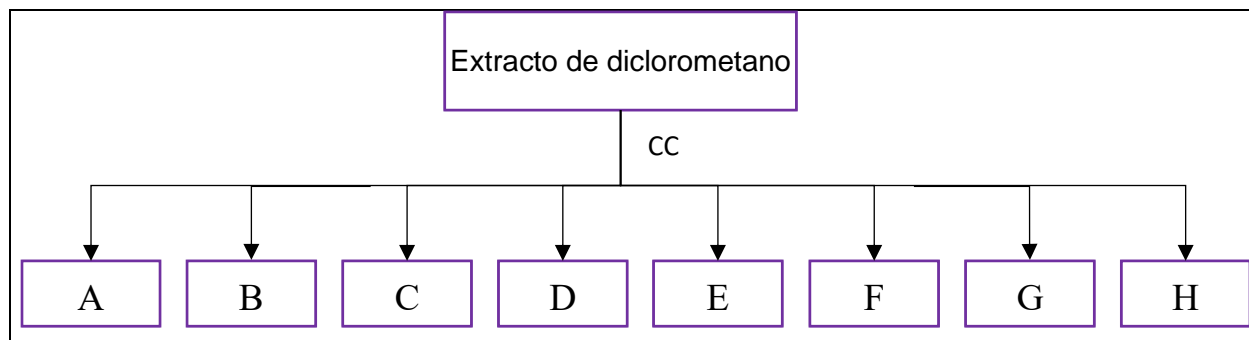


Figura 12. Obtención de los extractos de las hojas de *P. stelis*.

### 8.5.1. Estudio del extracto de diclorometano de las hojas de *Phthirusa stelis*.

Puentes en el 2018 realizaron un estudio parcial del extracto de diclorometano de las hojas de *Phthirusa stelis* esquematizado en la figura 13. De las ocho fracciones obtenidas, sólo se estudiaron cinco (Fracciones A, B, C, D y E).



**Figura 13.** Estudio parcial del extracto de diclorometano de las hojas de *P. stelis*.

Las fracciones restantes (F, G y H) fueron el punto de interés en este TEG. Luego de realizar un estudio por CCF a dichas fracciones, se observó que la fracción F (9,061 g) mostró un compuesto mayoritario “interesante”. Para separar los componentes se decidió (basándose en lo observado en la CCF) montar una columna plástica (columna CCEdF; **C**romatografía en **C**olumna del **e**xtracto de **D**iclorometano-**f**racción **F**). Dicha fracción (9,061 g) fue disuelta en la mínima cantidad de diclorometano (DCM) y decantada sobre el tope de una columna plástica ( $\varnothing$ : 3,50 cm) rellena con gel de sílice 60 (900 g). El desarrollo de la cromatografía se realizó usando DCM como eluyente. Una vez concluido el proceso, se cortaron 23 trozos de  $\approx$  3 cm de longitud, se extrajeron por percolación utilizando MeOH como eluyente, se concentraron en el rotavapor, se comparó su composición mediante CCF. Las fracciones de similar composición se reunieron, obteniéndose al final 5 reuniones (A-F) cuyos pesos y composición, deducida por CCF, se muestran en la tabla 7.

**Tabla 7.** Resultados de la cromatografía en columna CCEdF.

POLARIDAD ↓	Fracciones	Reunión	Masa (g)	Composición
	1-3	A	1,073	Clorofilas
	4-9	B	1,278	Clorofilas
	10-21	C	1,982	Clorofilas
	22	D	1,452	Compuestos de cadena larga + 1 flavonoide
	23	E	2,806	Mezcla compleja**

\*Los Flavonoides en capa fina se observan como manchas de color amarillo al ser reveladas con vapores de amoníaco (Harborne, 1992).

\*\*Mezcla compleja: gran cantidad de componentes en proporciones similares.

Las reuniones A, B y C fueron descartadas ya que en ellas se observaban sólo presencia de clorofilas, la fracción E también se descartó por observarse en ella una mezcla compleja para realizar separación, por lo que se procedió a trabajar con la fracción D la cual se disolvió en una mezcla de hexano/diclorometano/metanol Hx/DCM/MeOH 3:2:1 v/v, y pasó a través de una columna de Sephadex LH-20® utilizando la misma mezcla de solventes. Los resultados de esta cromatografía CCEdFrD se muestran en la tabla 8.

**Tabla 8.** Resultados de la cromatografía CCEdFrD.

TAMAÑO MOLECULAR ↑	Fracciones	Reunión	Masa (g)	Composición
	1-8	D1	0,256	Mezcla compleja
	9-17	D2	0,258	Mezcla compleja
	18-26	D3	0,143	Mezcla compleja
	27-33	D4	0,127	Mezcla compleja
	34-40	D5	0,130	Mezcla compleja
	41-50	D6	0,167	“Flavonoide + impurezas”

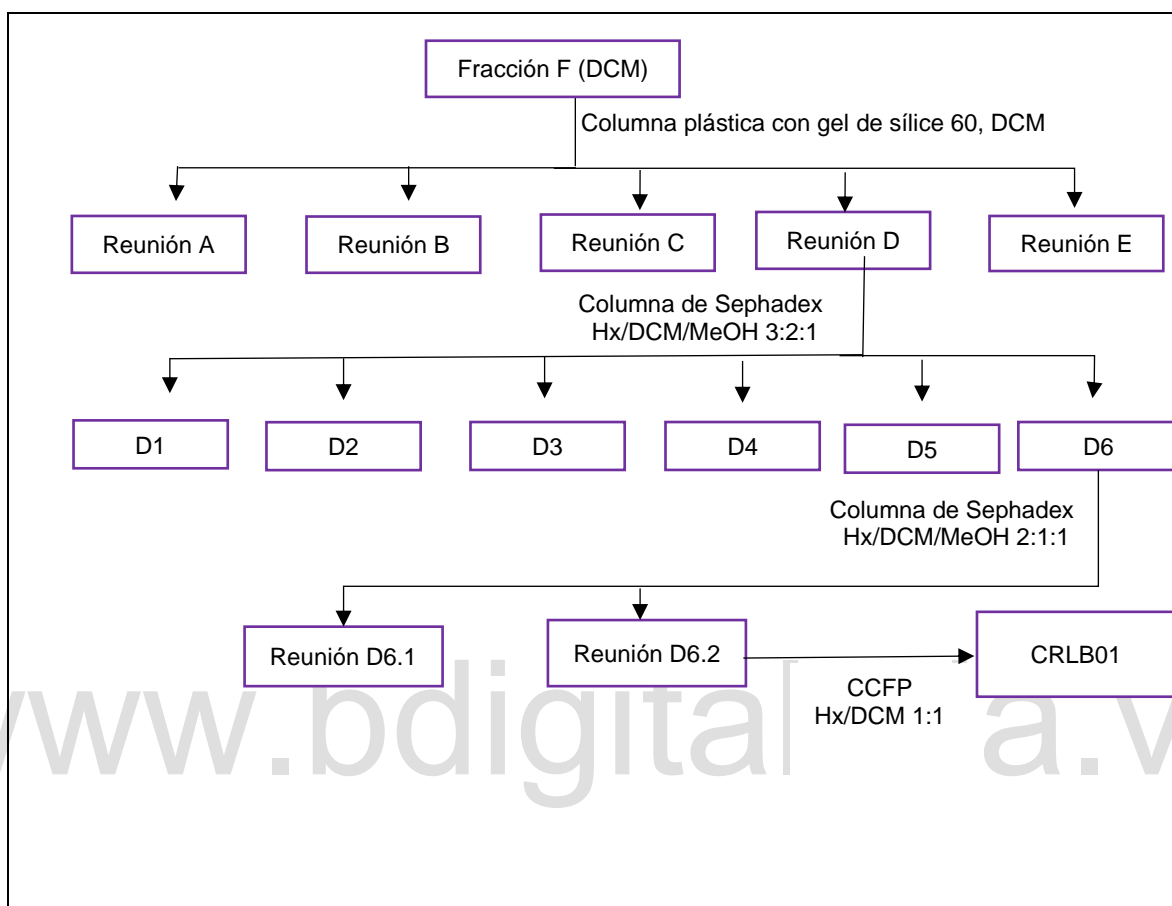
Las reuniones D1-D5 fueron descartadas por tratarse de mezclas complejas, la reunión D6 se disolvió en una mezcla de hexano/diclorometano/metanol Hx/DCM/MeOH 2:1:1 v/v, y pasó a través de una columna de Sephadex LH-20® utilizando la misma mezcla de solventes. Los resultados de esta cromatografía CCEdFrD6 se muestran en la tabla 9.

**Tabla 9.** Resultados de la cromatografía CCEdFrD6.

TAMAÑO MOLECULAR	Fracciones	Reunión	Masa (g)	Composición
	1-20	D6-1	0,112	Mezcla compleja
	21-30	D6-2	0,048	“Flavonoide + impurezas”

La reunión D6-1 se descartó y se procedió a disolver la reunión D6-2 en DCM y fue sembrada sobre 3 placas (20 x 20 x 0,5 cm) de gel de sílice 60. Las placas cromatográficas preparativas fueron desarrolladas usando una mezcla de hexano-diclorometano (Hx/DCM) 1:1. La franja de interés (amarilla a la luz visible y roja a 366 nm), de Rf: 0,48, se raspó de las láminas de vidrio soporte, se extrajo de la sílice con metanol, se filtró por gravedad y se

concentró al vacío, obteniéndose 30 mg de la fracción **CRLB01**. En la figura 14 se esquematiza el procedimiento experimental llevado a cabo sobre la fracción F de la cromatografía en columna del extracto de DCM de las hojas de *Phthirusa stelis*.

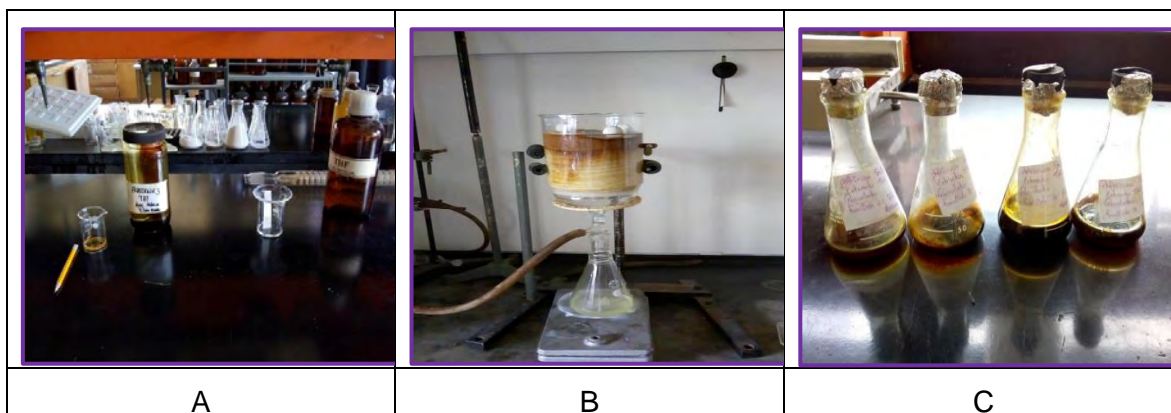


**Figura 14.** Esquematización del trabajo realizado a la fracción F del extracto de diclorometano de las hojas de *P. stelis*.

### 8.5.2. Estudio del extracto de tetrahidrofurano de las hojas de *Phthirusa stelis*.

Partiendo del extracto de tetrahidrofurano (120 g), figura 15A, obtenido por la Lcda. Morales (Morales, 2016), se realizó un análisis preliminar por cromatografía de capa fina usando como eluyente benceno y mezclas de benceno-metanol 95:5 y 90:10. Basado en los resultados del análisis cromatográfico, se decidió realizar un percolado (figura 15B) sobre gel de sílice (552,362 g) utilizando como eluyente porciones de 1 L de benceno, benceno/metanol 90:10, benceno/metanol 80:20 y finalmente metanol (CCeT).





**Figura 15.** Extracto de tetrahidrofurano de las hojas de *P. stelis*.

De la experiencia anterior se obtuvieron un total de 11 fracciones, que una vez concentradas se sometieron a un análisis por CCF utilizando los mismos eluyentes del examen preliminar, lo que permitió agruparlas en cuatro reuniones (figura 15C), tal como se detalla en la tabla 10.

**Tabla 10.** Resultados del percolado CCeT.

Fracciones	Reunión	Eluyente	Masa ( $\pm 0,0001$ ) g	Composición
1	A	Benceno (Bz)	32,4610	Grasas + aditivos*
2-4	B	Bz/MeOH 90:10 v/v	23,3380	Terpenoides**
5-7	C	Bz/MeOH 80:20 v/v	28,2206	¡Mezcla compleja!
8-11	D	Metanol (MeOH)	32,8333	¡Mezcla compleja!
Recuperado (%)			116,8529 (97,4 %)	

\*Determinado por IR

\*\*Los terpenos en capa fina se observan como manchas de color morada al ser reveladas con oleum (Rodríguez *et al.*, 2008).

Tomando en cuenta los resultados del análisis cromatográfico de cada una de las reuniones anteriores, se observaron sustancias de interés en la reunión B, por lo que se procedió a realizar una cromatografía empacada con gel de sílice en una columna de vidrio y montaje seco, utilizando como eluyentes benceno, mezclas de benceno/THF en diferentes proporciones, THF y metanol. Los resultados se detallan en la tabla 11.

Tabla 11. Resultados de la cromatografía en columna CCeTrB.

Fracciones	Reunión	Eluyente	Masa ( $\pm 0,0001$ ) g	Composición	
1-13	B1	Benceno (Bz)	0,0941	Flavonoide + compuestos minoritarios	
14-27	B2	Bz/THF 95:5 v/v	0,5620	Triterpenoide + icompuestos minoritarios	
28-46	B3	Bz/THF 90:10 v/v	0,2630	Mezcla compleja	
46-65	B4	Bz/THF 85:15 v/v	2,2330	Triterpenoide + compuestos minoritarios	
65-79	B5	Bz/THF 80:20 v/v	1,1160	¡Por analizar!	
80-99	B6	Bz/THF 75:25 v/v	1,1980		
100-119	B7	Bz/THF 70:30 v/v	2,8570		
120-135	B8	Tetrahidrofurano (THF)	2,3640		
136-149	B9		2,9770		
150-171	B10		1,6780		
171-186	B11	Metanol (MeOH)	1,4567		
187-200	B12		1,3678		
Recuperado (%)			18,1606 (77,81 %)		

La reunión B1 (94,1 mg), obtenida de la columna CCeTrB, se disolvió en DCM y fue sembrada sobre 5 placas (20 x 20 x 0,5 cm) de gel de sílice 60. Las placas cromatográficas preparativas fueron desarrolladas mediante 3 recorridos con una mezcla de benceno-tetrahidrofurano en proporción 3:1. La franja de interés (amarilla a la luz visible y roja a 366 nm lo que es característico de los flavonoles; Harborne, 1992) de Rf: 0,42; se raspó de las láminas de vidrio soporte, se extrajo de la sílice con metanol, se filtró por gravedad y se concentró al vacío, obteniéndose 45 mg de la fracción **CRLB02**. La tabla 12 especifica los resultados obtenidos con la CCFP de la reunión B1.

**Tabla 12.** Resultados de la CCFP realizada a CCeTrB1.

POLARIDAD ↓	Franja	Masa ( $\pm 0,0001$ ) g	Composición
	1	0,0090	Mezcla compleja
	2	0,0450	<b>CRLB02</b>
	3	0,0090	Mezcla compleja
	4	0,0060	Mezcla compleja
	5	0,0190	Mezcla compleja
	6	0,0050	Mezcla compleja
Recuperado (%)		0,093 (98,83%)	

La reunión B2 (562 mg) obtenida de la columna CCeTrB, se disolvió en DCM y fue fraccionada mediante cromatografía de columna de gel de sílice ( $\approx 80$  g) empacada en una columna de vidrio. Se usaron como eluyentes: hexano (250 mL), mezcla hexano/benceno 1:1 (500 mL) y benceno (750 mL) obteniéndose 60 fracciones de 25 mL, las cuales una vez analizadas por cromatografía de capa fina se agruparon en 6 reuniones, resultando de la reunión B2-5 un sólido pastoso blanco (0,173 g) que denominamos **CRLB03**. El espectro de RMN-<sup>1</sup>H preliminar mostró que era una mezcla de 2 componentes la cual fue resuelta parcialmente por cristalización fraccionada en metanol. La tabla 13 resume el trabajo realizado a la reunión B2.

**Tabla 13.** Resultados de la cromatografía en columna CCeTrB2.

Fracciones	Reunión	Eluyente	Masa (g)	Composición
1-9	B2-1	Hexano (Hx)	0,0578	Mezcla compleja
10-19	B2-2	Hx/Bz (1:1)	0,0895	Mezcla compleja
20-29	B2-3	Hx/Bz (1:1)o	0,1003	Mezcla compleja
30-39	B2-4	Benceno (Bz)	0,0352	Mezcla compleja
40-49	B2-5	(Bz)	0,1730	<b>CRLB03</b>
50-60	B2-6	(Bz)	0,1001	<b>CRLB04</b>
Recuperado			0,5559 (98,9 %)	

La reunión B4 (2,2330 g) obtenida de la columna CCeTrB, se disolvió en DCM y fue fraccionada mediante cromatografía de columna de gel de sílice ( $\approx 230$  g) empacada en una columna de vidrio. Se usaron como eluyentes 1000 mL de cada uno de los siguientes solventes y mezclas: hexano, mezclas hexano/benceno 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, y finalmente benceno (500 mL) obteniéndose 110 fracciones de 50 mL, las cuales una vez analizadas por cromatografía de capa fina se agruparon en 6 reuniones, resultando de la reunión B4-4 un sólido pastoso blanco **CRLB05** (0,3987 g). La tabla 14 resume el trabajo realizado a la reunión B4.

Tabla 14. Resultados de la cromatografía en columna CcETrB4.

Fracciones	Reunión	Eluyente	Masa (g)	Composición
1-19	B4-1	Hexano (Hx)	0,3080	Mezcla compleja
20-39	B4-2	Hx/Bz (95:5)	0,2580	Mezcla compleja
40-59	B4-3	Hx/Bz (90:10)	0,2147	Mezcla compleja
60-79	B4-4	Hx/Bz (85:15)	0,3987	<b>CRLB05</b>
80-99	B4-5	Hx/Bz (80:20)	0,3658	Mezcla compleja
100-110	B4-6	Benceno (Bz)	0,3800	Mezcla compleja
Recuperado			1,9252 (86,2 %)	

En la figura 16 están plasmadas en imágenes los procesos y en la figura 17 se esquematiza el procedimiento seguido, hasta ahora, para la separación de los componentes del extracto de THF las hojas de *P. stelis*.

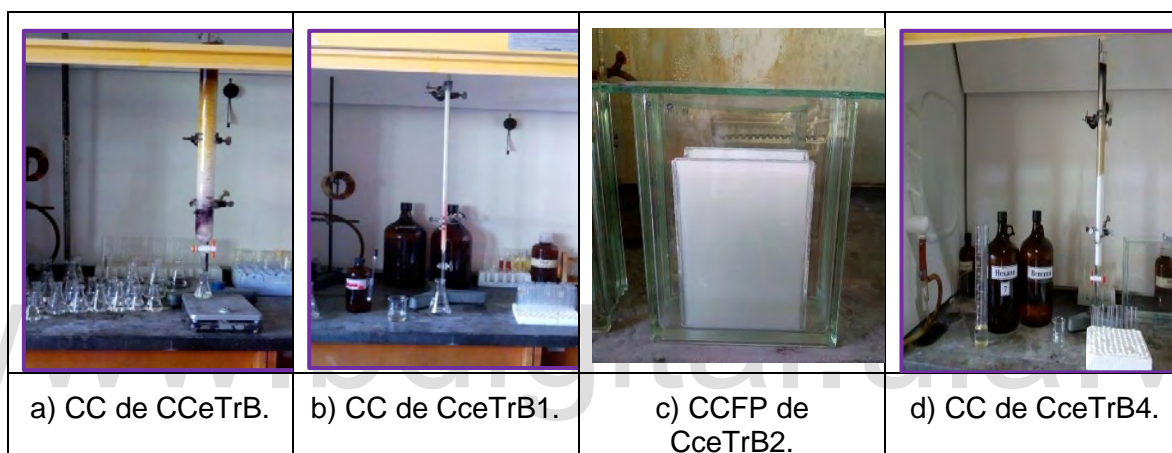


Figura 16. Métodos cromatográficos utilizados para la separación de compuestos en CcETrB.

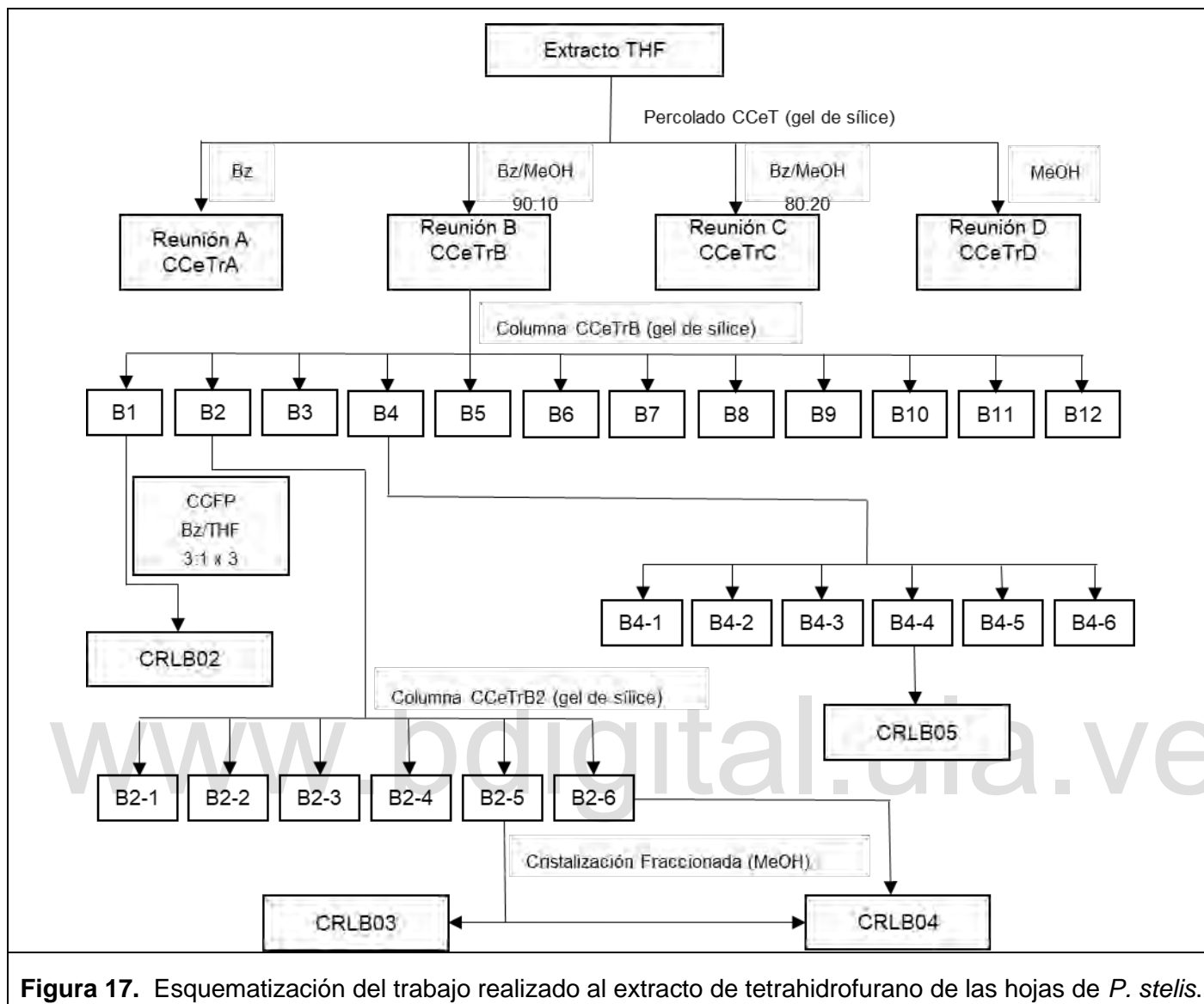


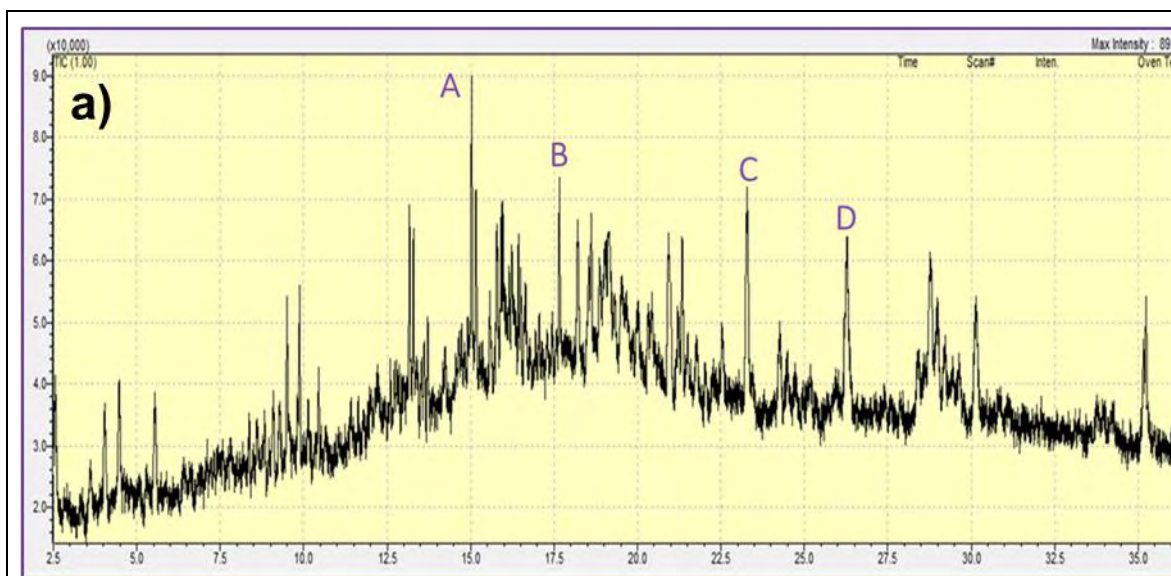
Figura 17. Esquematización del trabajo realizado al extracto de tetrahidrofurano de las hojas de *P. stelis*.

## 9. Resultados y Discusión.

### 9.1. Caracterización de los productos.

#### 9.1.1. Identificación mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, de los componentes presentes en CRLB01 Y CRLB02.

Las muestras CRLB01 y CRLB02, provenientes de los extractos de diclorometano y tetrahidrofurano respectivamente, fueron sometidas a un análisis por CG/EM, como resultado se identificaron una serie de compuestos a nivel de trazas como muestra el nivel de ruido de los cromatogramas (figuras 18a y 18b de estructuras similares a los compuestos identificados por Morales en 2018. Los compuestos mayoritarios, como tales, no fueron eluidos de la columna, bien sea por haberse retenido en las precolumnas, por haberse descompuesto dentro de la columna (poco probable por tratarse de flavonoides), o no se alcanzó la temperatura y tiempo necesarios para su elución de la columna (lo más probable). La tabla 15 muestra los compuestos presentes analizados con la Biblioteca WILEY utilizando el software GCMS Postrum Analisis (SHIMATZU, 2016) identificados por la Licenciada Andrea Baptista a cargo del análisis en la Universidad de Córdoba, exceptuando los contaminantes.





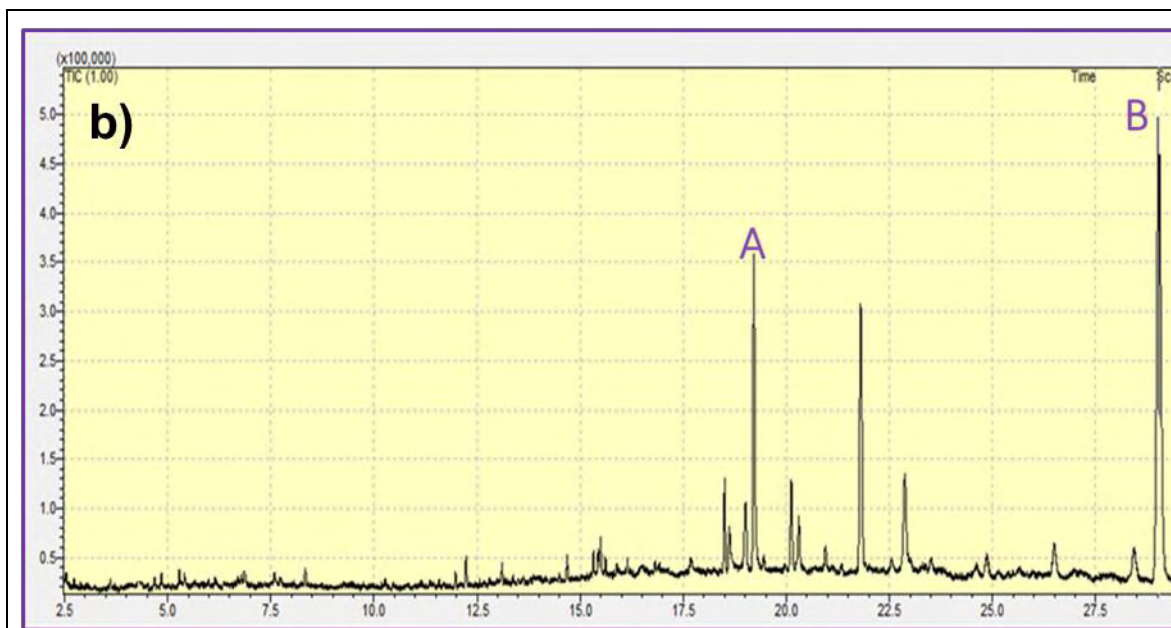
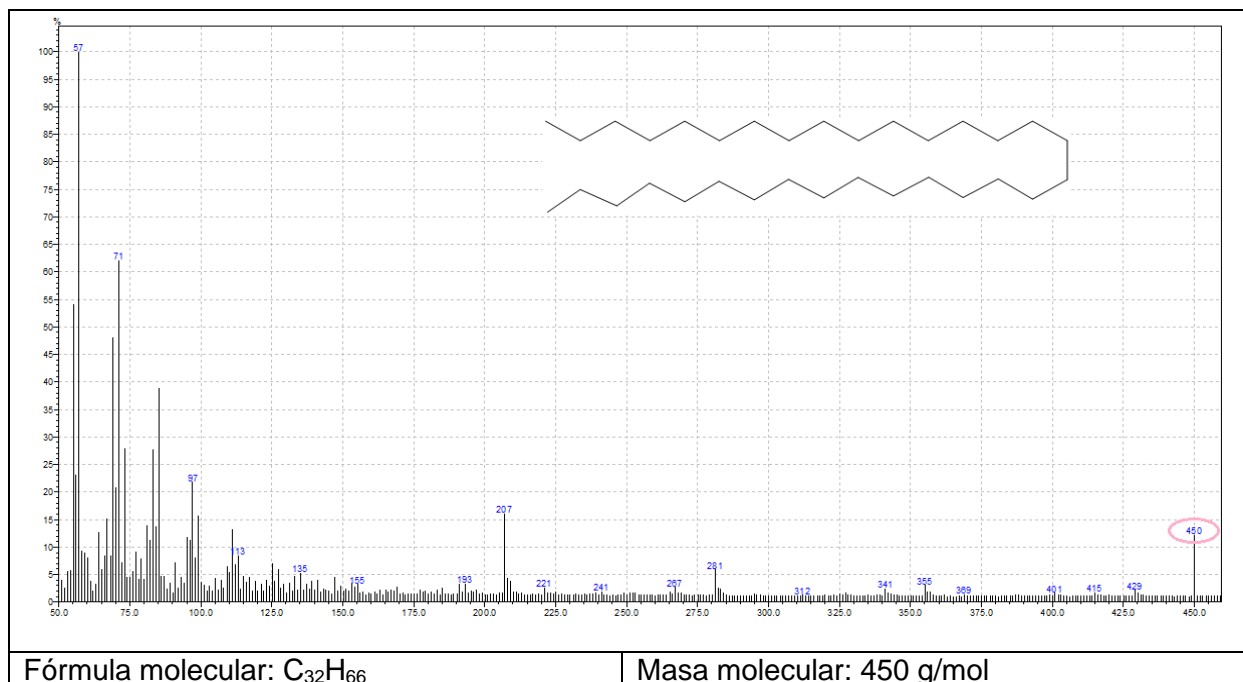


Figura 18. Cromatograma de gases de las muestras: a) CRLB01, b) CRLB02.

Tabla 15. Compuestos minoritarios identificados por CG/EM en las fracciones CRLB01 y CRLB02.

Muestra	Asignación	TR (min.)	% Certeza	Compuesto	M <sup>+</sup>
CRLB01	A	15.063	97	Dotriacontano	450
	B	17.667	98	2-(Tetradeciloxi)etil éster del ácido palmítico	496
	C	28.792	90	3,7,11-Trimetil-2,6,10-dodecatrien-1-ol	222
	D	33.731	98	7,3,4-Trimetoxiquercetina	344
CRLB02	A	19.214	99	3-Tridesil-éster del ácido butírico	216
	B	29.034	98	2-Tetrahidrofurilmetil-éster del ácido valérico	186

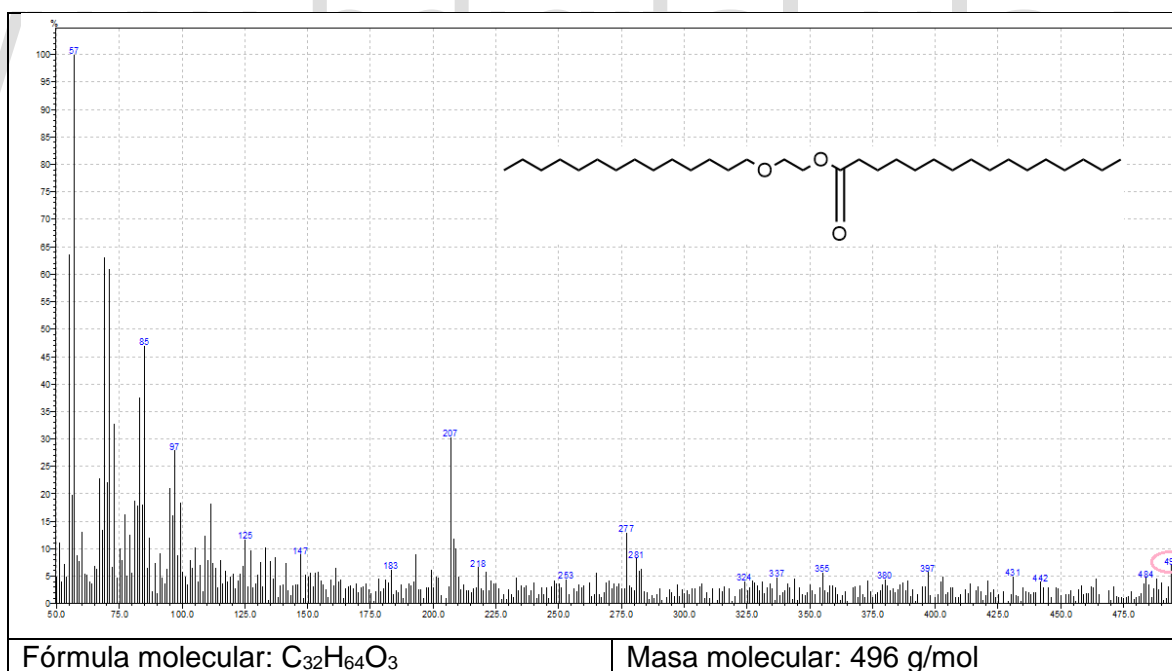
De las figuras 19 a 24, se presentan los espectros de masas de los compuestos minoritarios identificados por cromatografía de gases acoplados a espectrometría de masas.



Fórmula molecular:  $C_{32}H_{66}$

Masa molecular: 450 g/mol

Figura 19. Espectro de masas de dotriacontano.



Fórmula molecular:  $C_{32}H_{64}O_3$

Masa molecular: 496 g/mol

Figura 20. Espectro de masas del 2-(tetradeciloxi)etil éster del ácido palmítico.



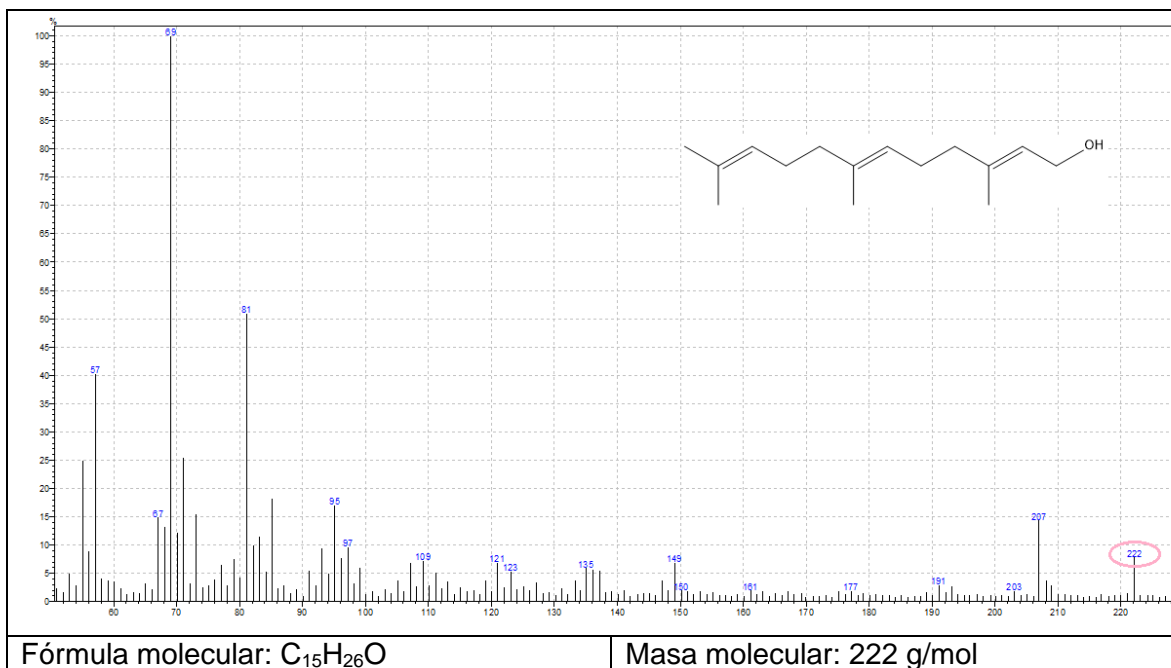


Figura 21. Espectro de masas de 3,7,11-trimetil-2,6,10-dodecatrien-1-ol.

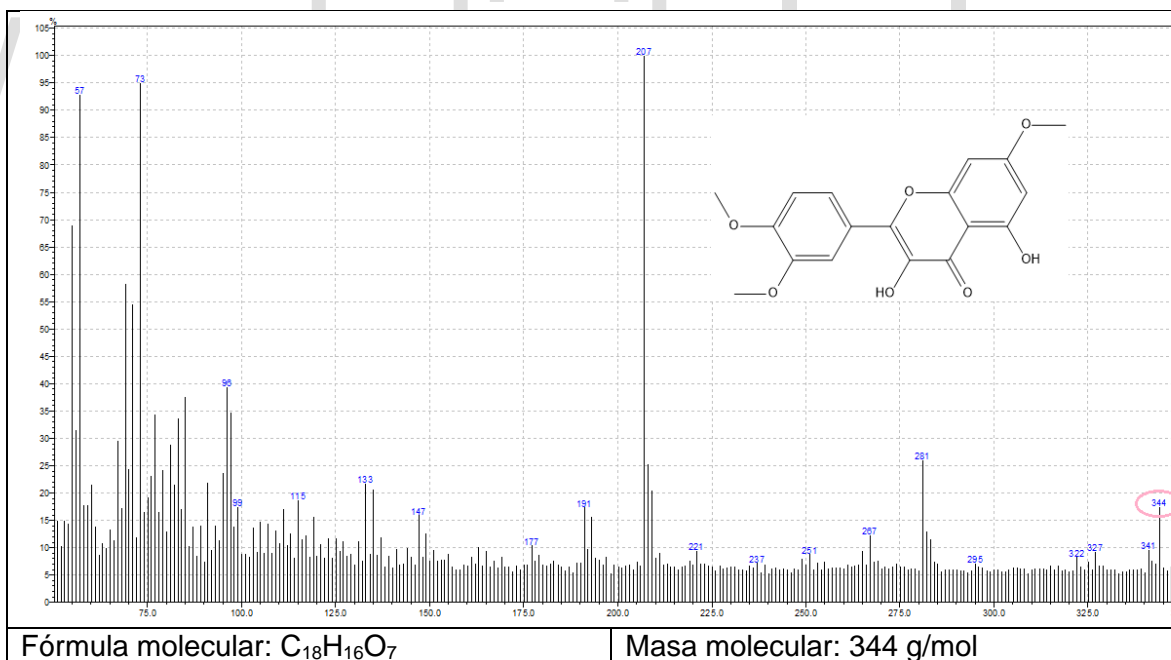


Figura 22. Espectro de masas de 7,3',4'-trimetoxiquercetina.

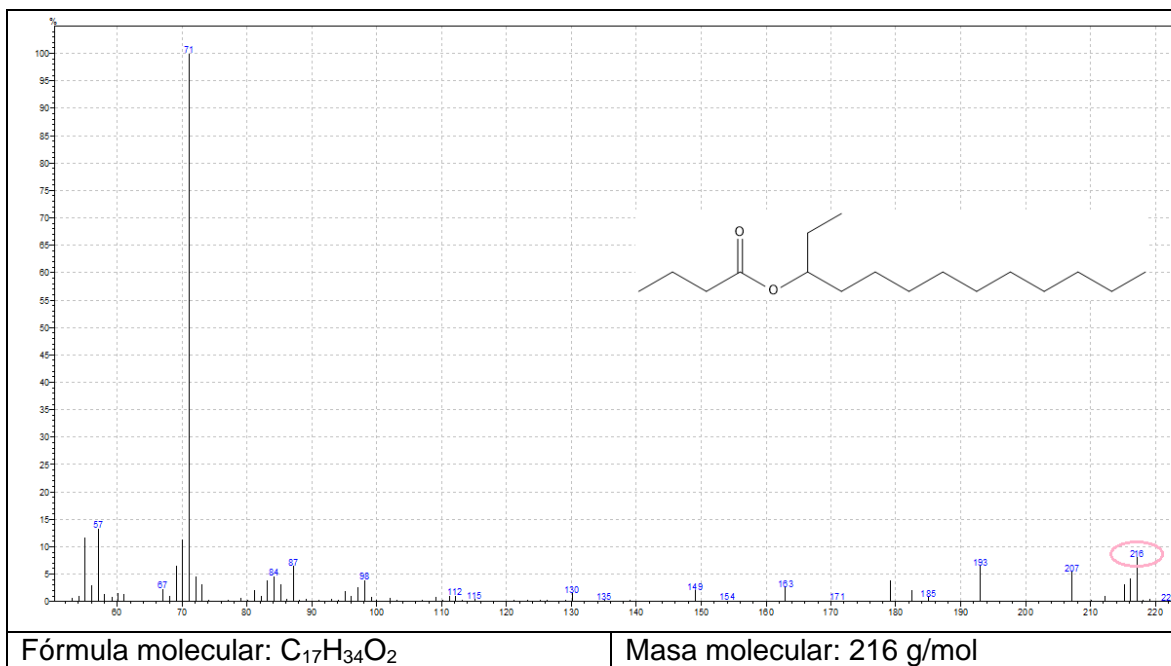


Figura 23. Espectro de masas del 3-tridesil éster del ácido butírico.

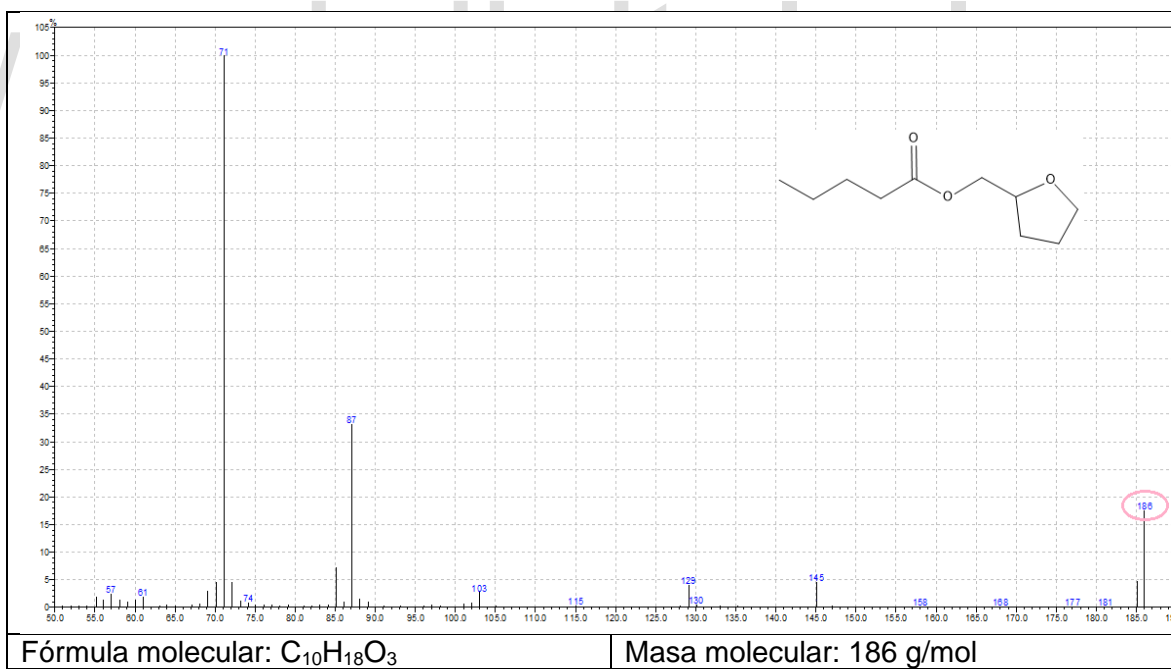


Figura 24. Espectro de masas del éster (2-tetrahidrofuril)metílico del ácido valérico.

### 9.1.2. Elucidación estructural del compuesto CRLB03 mediante técnicas espectroscópicas.

De la reunión CCETrB2-5 se aisló un sólido blanco (0,173 g) que funde entre 121,2-123,5 °C y al ser revelado con olivum en CCF muestra una mancha color morado característica de los triterpenos (Rodríguez *et al.*, 2008).

En la figura 25 se aprecian absorciones características de vibraciones de tensión correspondientes a un grupo hidroxilo en 3494  $\text{cm}^{-1}$ , las señales de tensión asimétrica y simétrica de C-H en 2926  $\text{cm}^{-1}$  y 2854  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente, la vibración de tensión C=O 1734  $\text{cm}^{-1}$  que junto con las señales de tensión simétricas del enlace C-O 1042  $\text{cm}^{-1}$  indican la presencia del grupo éster. La tabla 16 presenta de manera detallada las bandas de vibración características de alcanos, alquenos y grupos hidroxilos del compuesto.

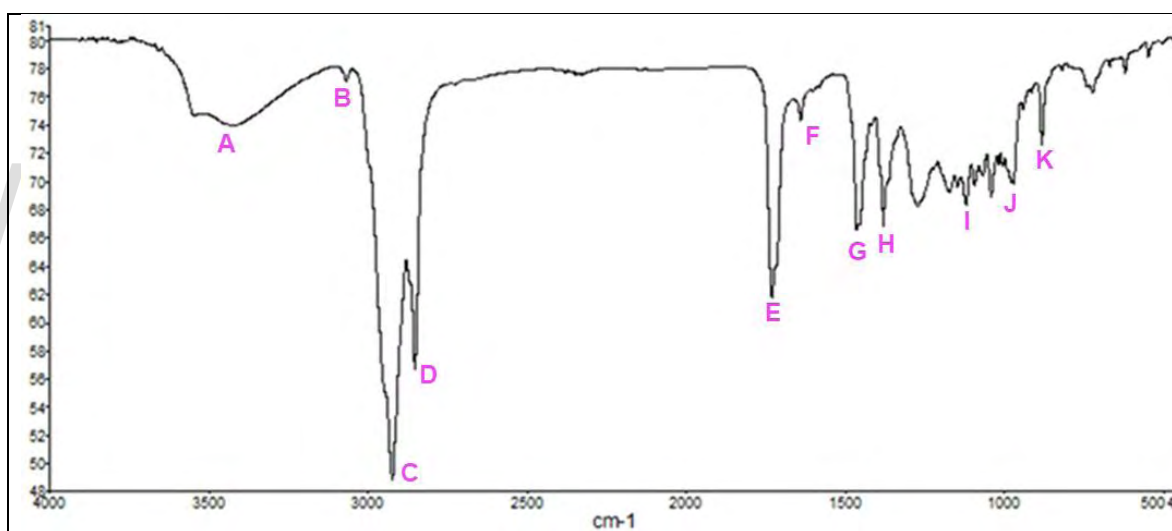


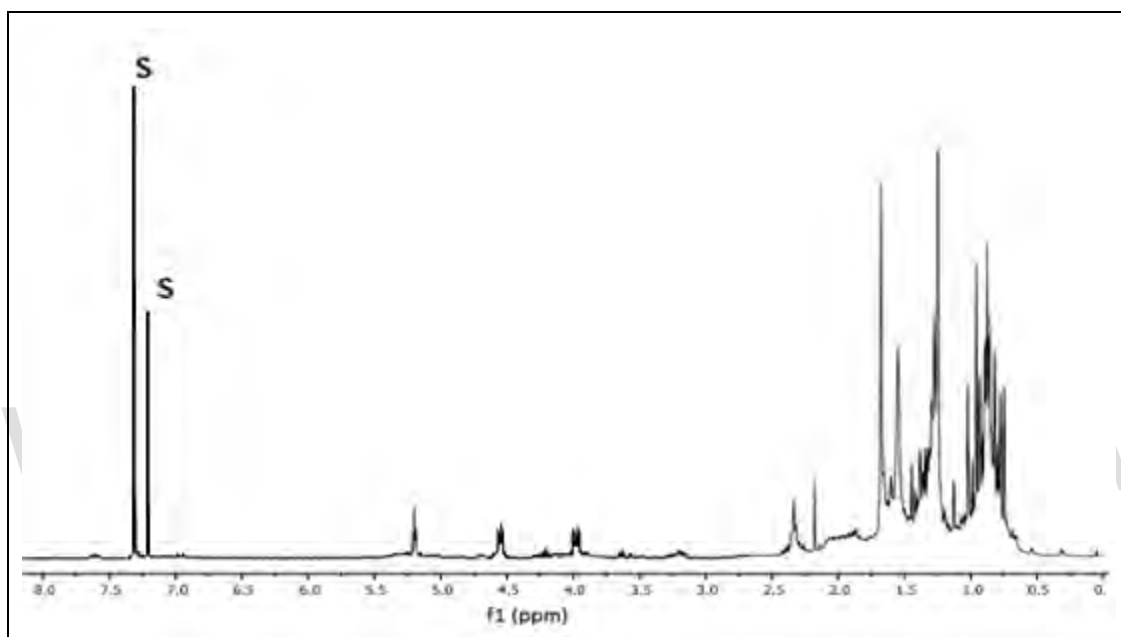
Figura 25. Espectro infrarrojo del compuesto CRLB03.

Tabla 16. Bandas de absorción en el espectro infrarrojo del compuesto CRLB03.

Señal	$\nu$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	Asignación
A	3494	Vibración de tensión O-H
B	3074	Vibración de tensión =C-H
C	2926	Vibración de tensión asimétrica C-H, $\text{CH}_2$
D	2854	Vibración de tensión simétrica C-H, $\text{CH}_2$
E	1734	Vibración de tensión C=O, éster
F	1641	Vibración de tensión C=C

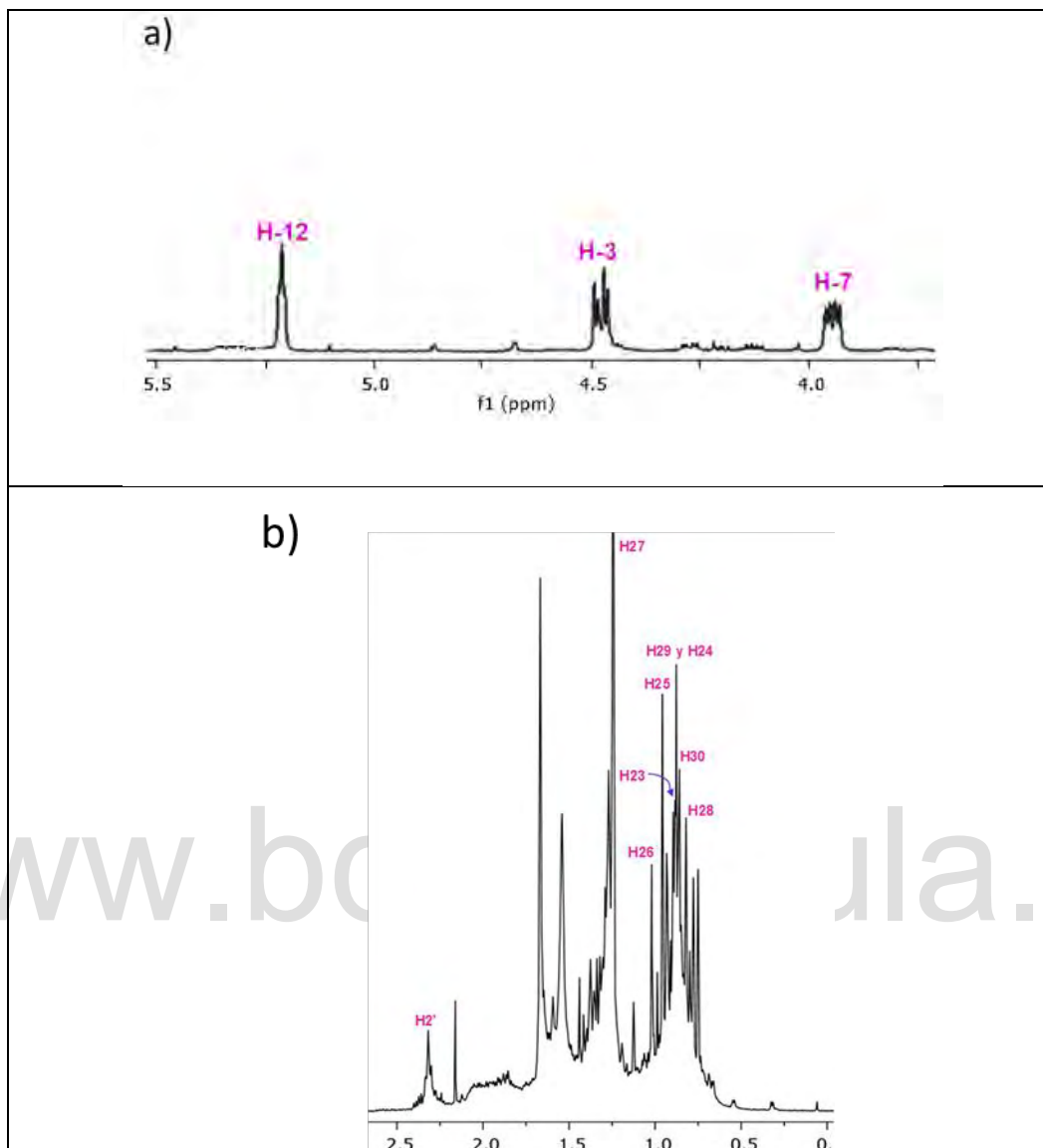
G	1464	Vibración de flexión asimétrica del metilo
H	1382	Vibración de flexión simétrica del metilo
I	1042	Vibración de estiramiento asimétrico C-O
J	990	Vibración de flexión fuera del plano de =C-H
K	722	Vibración de balanceo CH <sub>2</sub>

La figura 26 muestra el espectro RMN-<sup>1</sup>H correspondiente a la muestra CRLB03 adquirido utilizando una mezcla de cloroformo y benceno deuterado como solventes.



**Figura 26.** Espectro RMN-<sup>1</sup>H del compuesto CRLB03.

En la figura 27(a) se resalta la única señal de un protón enlazado a un carbono sp<sup>2</sup> [ $\delta_H$ : 5.18;  $t$  ( $J$ : 3.5 Hz)] que confirma la presencia del grupo olefínico trisustituido, además, se observan señales a  $\delta_H$ : 4.45 [dd ( $J_1$ : 10.0 Hz;  $J_2$ : 5.0 Hz)] y  $\delta_H$ : 3.95 [dd ( $J_1$ : 11.0 Hz;  $J_2$ : 5.5 Hz)] que corresponden a protones geminales de las funciones oxigenadas de un grupo éster e hidroxilo respectivamente. La figura 27(b) muestra un desplazamiento de  $\delta_H$ : 2,28; correspondiente a un triplete de los protones H<sub>2</sub>C-CO<sub>2</sub>, y entre  $\delta_H$ : 1,25 y  $\delta_H$ : 0,80 se distinguen nueve señales de grupos metilos (8 singletes + 1 triplete).



**Figura 27.** Ampliaciones del espectro RMN- $^1\text{H}$  del compuesto CRLB03. a) (5,50-3,80) ppm, b) (2,50-0) ppm.

En el espectro RMN- $^{13}\text{C}$  de CRLB03 (figura 28) se observan 46 señales, diferenciadas según el DEPT (figura 28) en 9 metilos, 23 metilenos, 6 metinos (incluyendo 1 olefínico y 2 geminales a funciones oxigenadas) y 7 carbonos cuaternarios (incluyendo 1 carbono carboxílico).

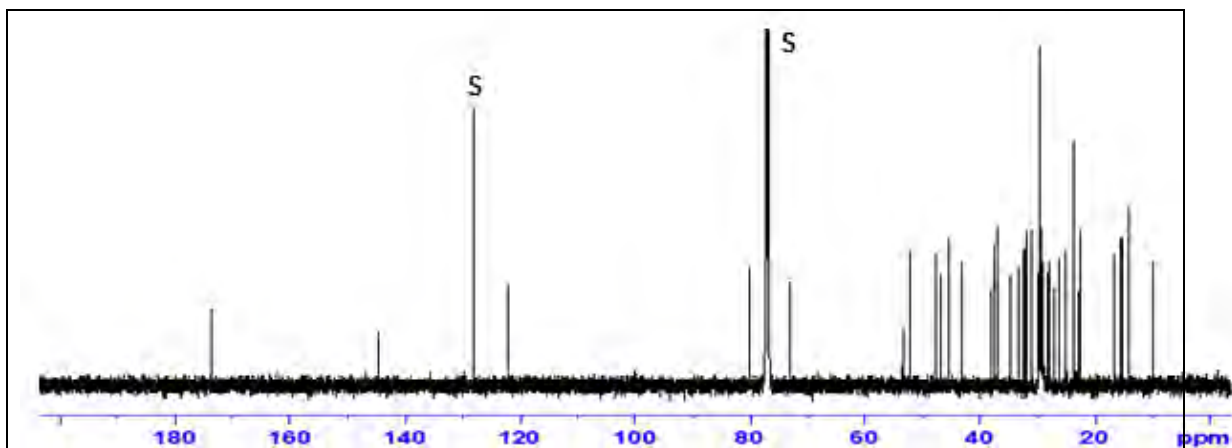
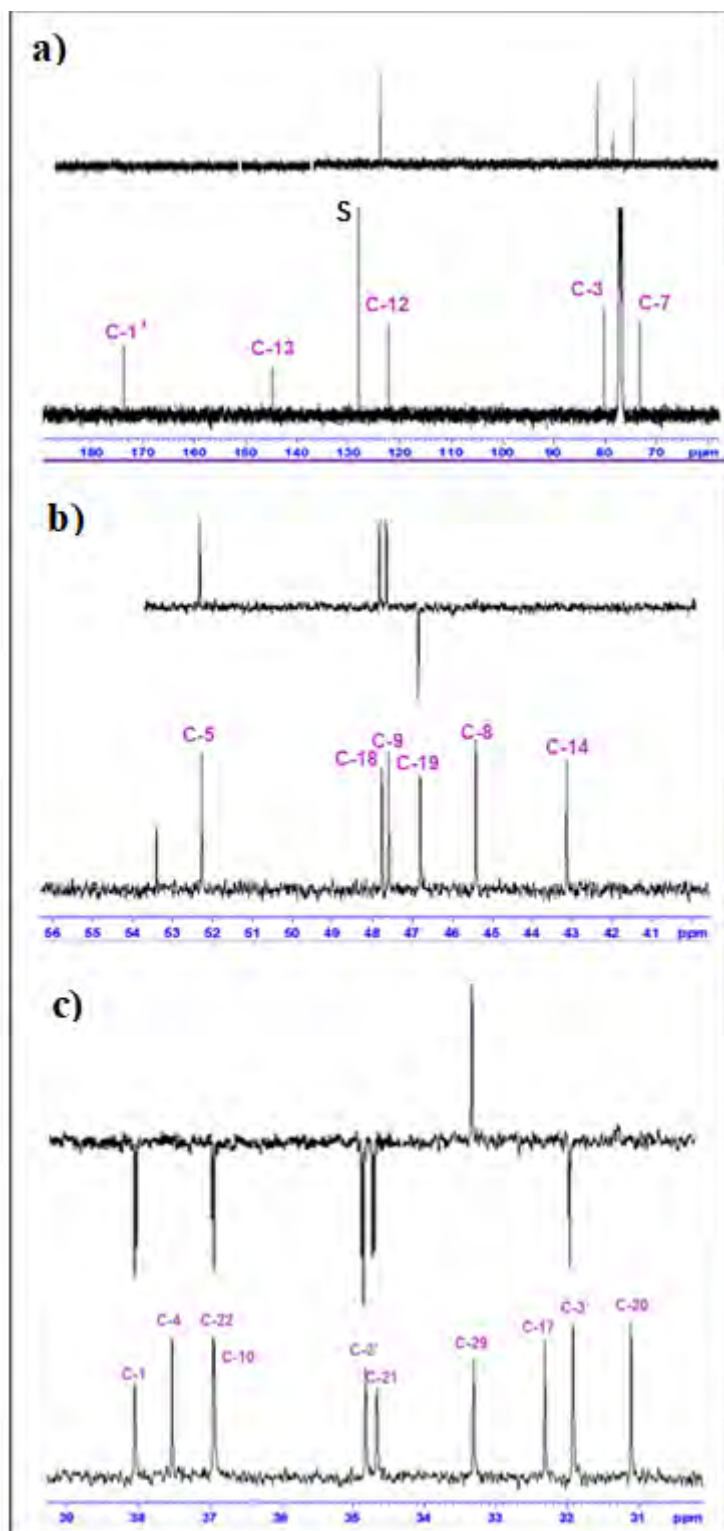
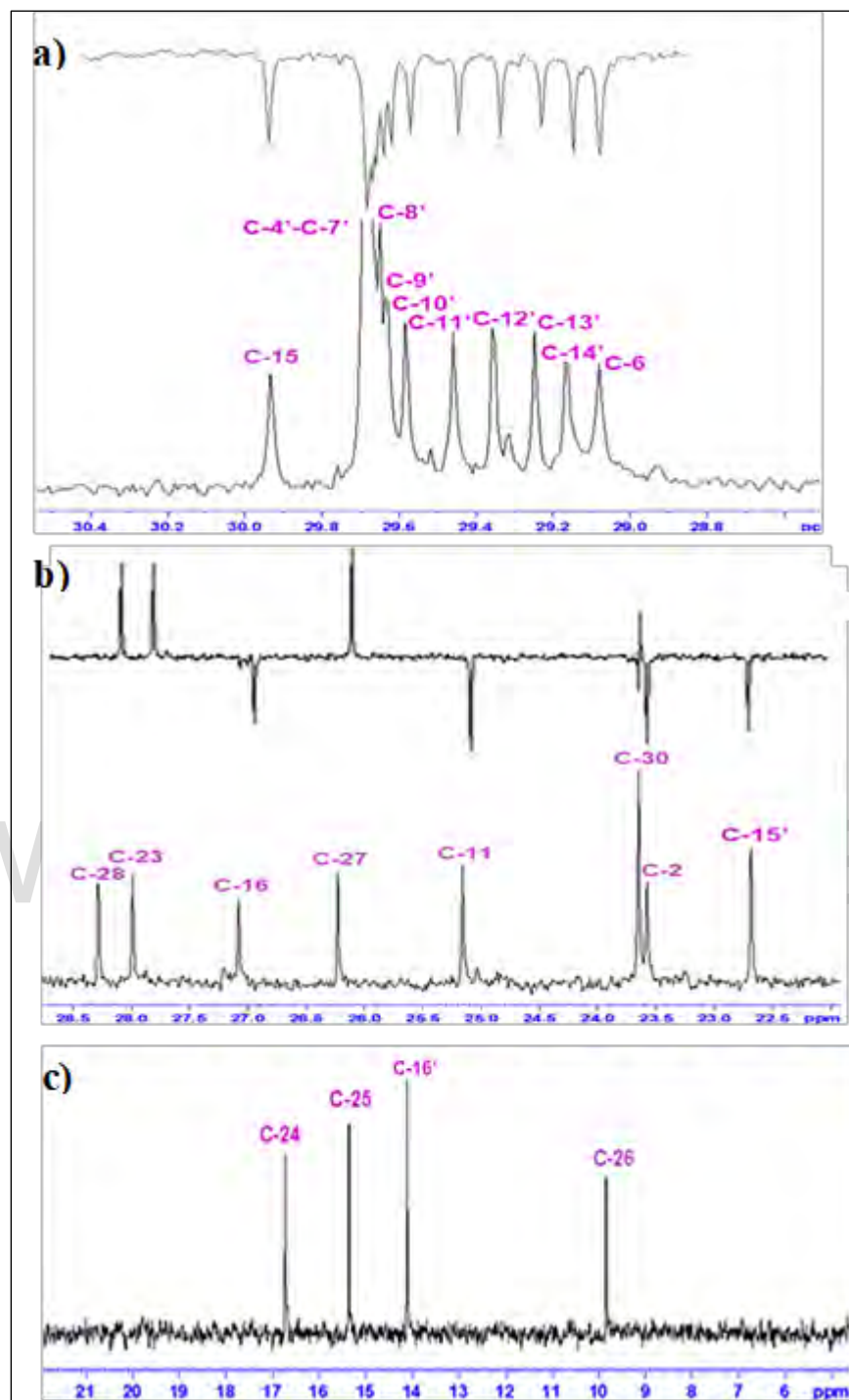


Figura 28. Espectro RMN-<sup>13</sup>C del compuesto CRLB03.

www.bdigital.ula.ve



**Figura 29.** ( a, b, c) Ampliaciones del espectro RMN- $^{13}\text{C}$  y DEPT del compuesto CRLB03. a) (190-60) ppm. b) (56-40) ppm c) (39-30) ppm.



**Figura 30.** (d, e, f) Ampliaciones del espectro RMN-<sup>13</sup>C y DEPT del compuesto CRLB03. d) (30,5-28,5) ppm e) (29-22) ppm, f) (22-5) ppm.



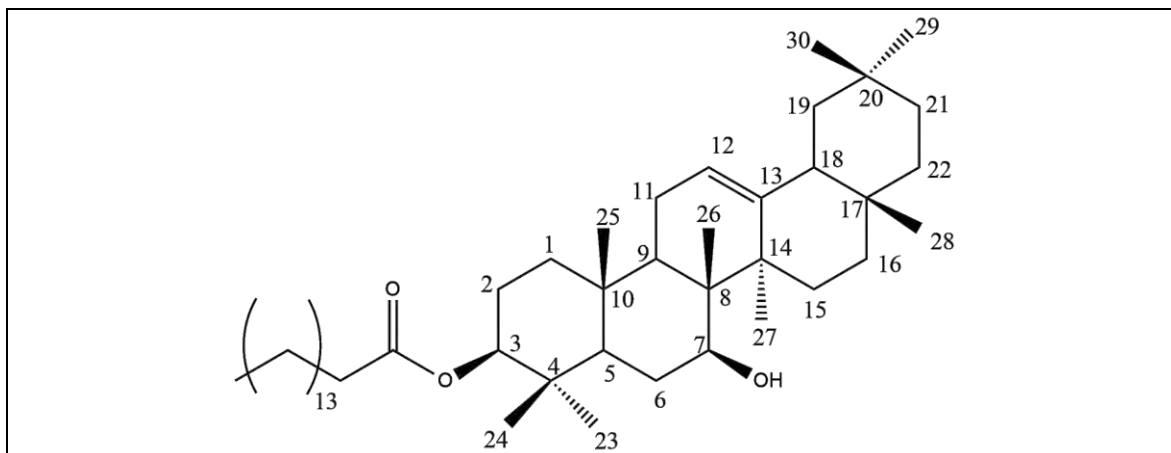
El estudio comparativo de los espectros IR, RMN  $^1\text{H}$ , desplazamientos químicos de los carbonos (tabla 17), así como del punto de fusión del compuesto CRLB03 con los previamente aislados de extractos menos polares de esta especie, mostró que coincidían con los reportados por Morales para el compuesto **[2]**, 3 $\beta$ -palmitato de 7 $\beta$ -hidroxiolean-12-eno (Morales, 2016). Las ligeras diferencias observadas en los desplazamientos químicos de los hidrógenos en el espectro de RMN- $^1\text{H}$  se explican por el efecto anisotrópico del benceno presente en la muestra ( $\delta_{\text{H}}$ : 7.15;  $\delta_{\text{C}}$ : 128.0).

www.bdigital.ula.ve

**Tabla 17.** Desplazamientos químicos de los carbonos en RMN-<sup>13</sup>C de CRLB03, CRLB04 y el compuesto de referencia.

Carbono	Tipo de carbono	$\delta_c$		
		CRLB03	CRLB04	CREM04 (Morales, 2016)
C1	-CH <sub>2</sub> -	38,06	38,09	38,6
C2	-CH <sub>2</sub> -	23,62	23,64	23,58
C3	-CH(OCOR)-	80,20	80,18	80,18
C4	>C<	37,55	37,56	37,53
C5	>CH-	52,10	52,27	52,28
C6	-CH <sub>2</sub> -	29,12	29,13	29,08
C7	-CH(OH)-	73,18	73,20	73,16
C8	>C<	45,44	45,46	45,41
C9	>CH-	47,65	47,69	47,60
C10	>C<	36,90	36,97	36,94
C11	-CH <sub>2</sub> -	25,10	25,16	25,50
C12	=CH-	122,40	122,45	122,05
C13	=C<	144,78	144,75	144,70
C14	>C<	43,20	43,14	43,14
C15	-CH <sub>2</sub>	30,01	29,96	29,94
C16	-CH <sub>2</sub> -	29,18	29,17	27,08
C17	>C<	32,38	32,31	32,31
C18	>C-	47,79	47,79	47,77
C19	-CH <sub>2</sub> -	46,80	46,82	46,81
C20	>C<	31,16	31,14	31,11
C21	-CH <sub>2</sub> -	34,70	34,69	34,66
C22	-CH <sub>2</sub> -	36,99	36,96	36,95
C23	-CH <sub>3</sub>	28,99	27,99	27,99
C24	-CH <sub>3</sub>	16,75	16,73	16,73
C25	-CH <sub>3</sub>	15,40	15,36	15,36
C26	-CH <sub>3</sub>	9,89	9,84	9,84
C27	-CH <sub>3</sub>	26,40	26,48	26,23
C28	-CH <sub>3</sub>	28,30	28,29	28,29
C29	-CH <sub>3</sub>	33,34	33,38	33,31
C30	-CH <sub>3</sub>	23,70	23,65	23,65
C1'	-CO <sub>2</sub> -	173,70	173,81	173,67
C2'	-CH <sub>2</sub> -	34,93	34,85	34,88
C3'	-CH <sub>2</sub> -	31,95	31,93	31,92
C4'	-CH <sub>2</sub> -	29,73	29,71	29,70
C5'	-CH <sub>2</sub> -	29,70	29,69	29,70
C6'	-CH <sub>2</sub> -	29,69	29,69	29,69
C7'	-CH <sub>2</sub> -	29,68	29,68	29,68
C8'	-CH <sub>2</sub> -	29,66	29,65	29,66
C9'	-CH <sub>2</sub> -	29,61	29,59	29,59
C10'	-CH <sub>2</sub> -	29,51	29,49	29,46
C11'	-CH <sub>2</sub> -	29,38	29,37	29,36
C12'	-CH <sub>2</sub> -	29,29	29,29	29,25
C13'	-CH <sub>2</sub> -	29,22	29,19	29,17
C14'	-CH <sub>2</sub> -	25,20	25,18	25,16
C15'	-CH <sub>2</sub> -	22,71	22,70	22,69
C16'	-CH <sub>3</sub>	14,12	14,12	14,11

En base a lo discutido anteriormente se establece que el compuesto CRLB03 es el 3 $\beta$ -palmitato de 7 $\beta$ -hidroxiolean-12-eno (figura 28).



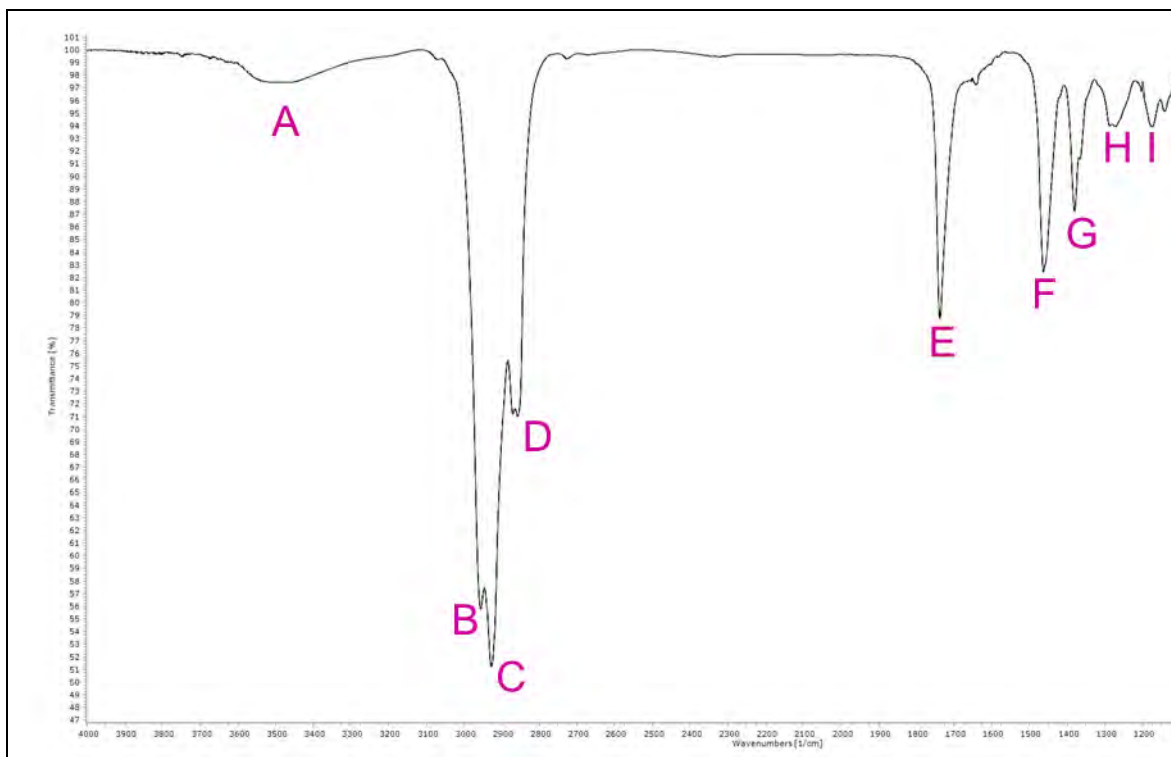
**Figura 31.** Diagrama molecular de CRLB03 (3 $\beta$ -palmitato de 7 $\beta$ -hidroxiolean-12-eno).

### 9.1.3. Elucidación estructural del compuesto CRLB04 mediante técnicas espectroscópicas.

De la reunión CCETrB4-4 se aisló un sólido blanco (0,1001 g) que funde entre 108,2 y 110,0 °C y que en CCF revelaba (oleum) como una mancha color morado.

En el espectro infrarrojo (figura 32 y tabla 18) se observa la vibración de tensión de O-H en 3493  $\text{cm}^{-1}$ , la vibración de tensión asimétrica y simétrica del enlace C-H de  $\text{CH}_2$ , en 2927  $\text{cm}^{-1}$  y 2857  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente, la vibración de tensión del enlace C=O en 1738  $\text{cm}^{-1}$ , la vibración de tensión asimétrica C-O-C y la vibración de tensión simétrica de C-O-C en 1272  $\text{cm}^{-1}$  y 1175  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente, lo que confirma la presencia de un éster.

Es importante resaltar que a pesar de que las bandas a 3060  $\text{cm}^{-1}$  y 1600  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes a las vibraciones de tensión =C-H y C=C, respectivamente no son observadas claramente en la figura 30, ambas bandas están presentes en el espectro, esto debido a un efecto de concentración. La tabla 18 muestran las asignaciones de las señales características en este espectro.

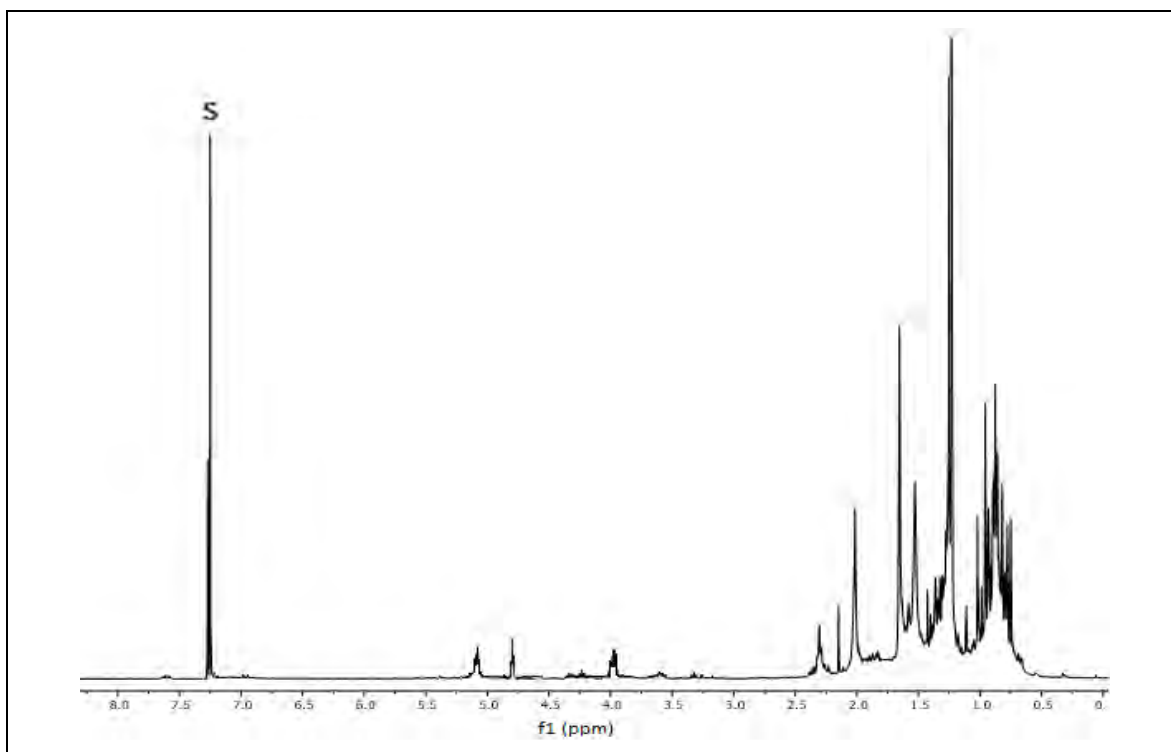


**Figura 32.** Espectro infrarrojo del compuesto CRLB04.

**Tabla 18.** Bandas de absorción en el espectro infrarrojo del compuesto CRLB04.

Señal	$\nu$ (cm <sup>-1</sup> )	Asignación
A	3493	Vibración de tensión O-H
B	2957	Vibración de tensión asimétrica C-H, -CH <sub>3</sub>
C	2927	Vibración de tensión asimétrica C-H, -CH <sub>2</sub>
D	2857	Vibración de tensión simétrica C-H, -CH <sub>2</sub>
E	1738	Vibración de tensión C=O, éster
F	1462	Vibración de flexión asimétrica del metilo
G	1380	Vibración de flexión simétrica del metilo
H	1272	Vibración de tensión asimétrica C-O-C
I	1175	Vibración de tensión simétrica C-O-C
J	1036	Vibración de estiramiento asimétrico C-O
K	883	Vibración de flexión fuera del plano de =C-H
L	729	Vibración de balanceo CH <sub>2</sub>

La figura 33 muestra el espectro RMN-<sup>1</sup>H correspondiente a la muestra CRLB04.

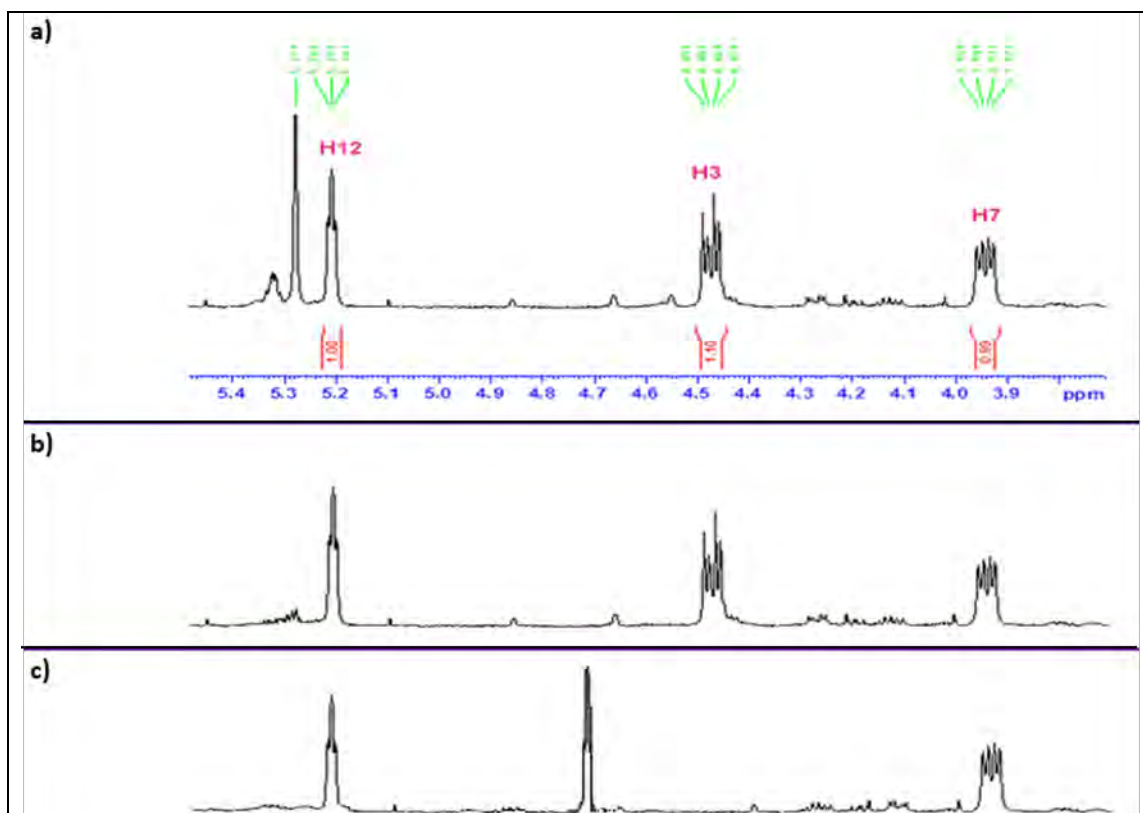


**Figura 33.** Espectro RMN-<sup>1</sup>H del compuesto CRLB04.

La figura 34 muestra la región comprendida entre 5.5 y 3.7 ppm de los espectros protónicos de los tres compuestos ((Morales, 2016) CRLB03 y CRLB04) para facilitar el análisis comparativo de los hidrógenos 3, 7 y 12. En la tabla 19 se plasman los valores numéricos de los desplazamientos químicos para estos tres compuestos. La única diferencia significativa de dichos desplazamientos se observó entre los hidrógenos H-3 del compuesto de referencia y CRLB03 con respecto a CRLB04.

**Tabla 19.** Desplazamientos químicos de los hidrógenos H3, H7 y H12 del compuesto de referencia, CRLB03 y CRLB04.

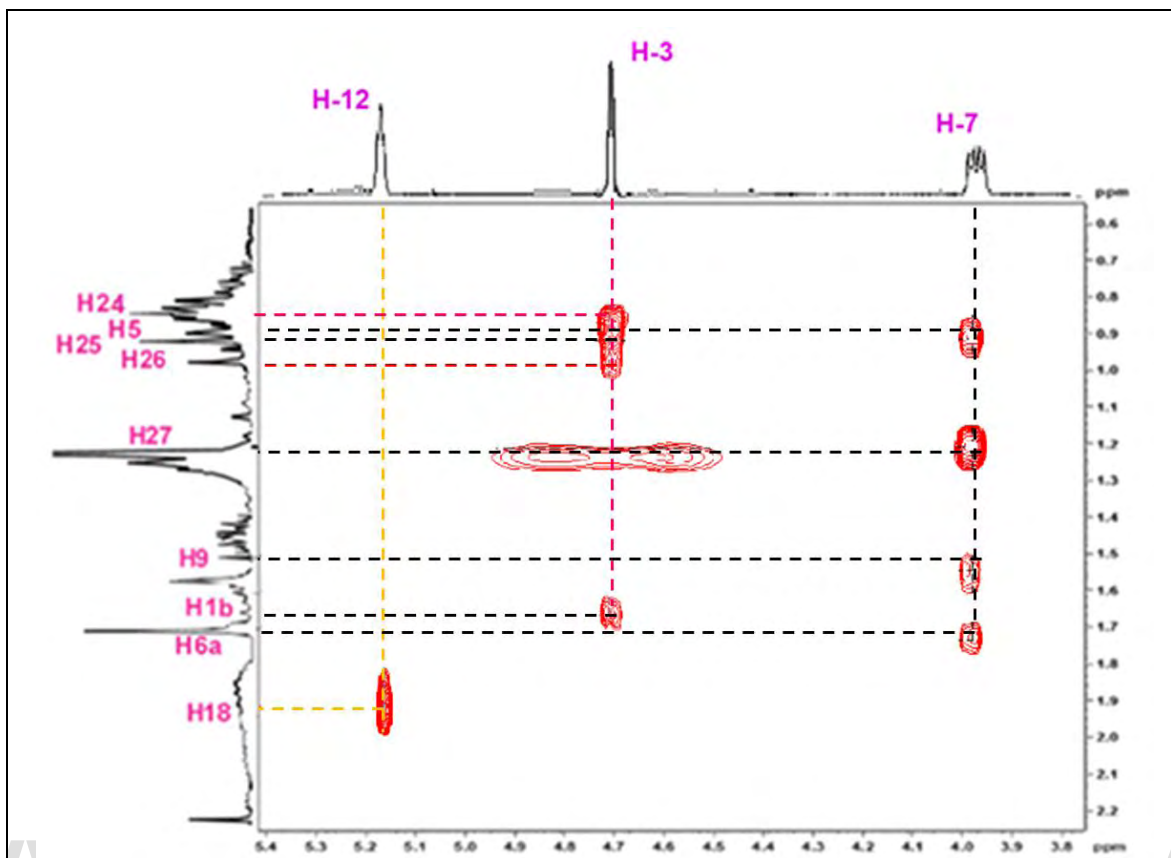
H	Compuesto		
	Referencia	CRLB03	CRLB04
3	4.475, <i>dd</i> ( $J_1$ : 11.0 Hz; $J_2$ : 5.0 Hz)	4.45, <i>dd</i> ( $J_1$ : 11.0 Hz; $J_2$ : 5.0 Hz)	<b>4.69, <i>dd</i></b> <b>(<math>J_1</math>: 3.8 Hz; <math>J_2</math>: 3.4 Hz)</b>
7	3.934, <i>dd</i> ( $J_1$ : 11.0 Hz; $J_2$ : 5.5 Hz)	3.92, <i>dd</i> ( $J_1$ : 11.0 Hz; $J_2$ : 5.5 Hz)	3.92, <i>dd</i> ( $J_1$ : 11.0 Hz; $J_2$ : 5.5 Hz)
12	5.209, <i>dd</i> ( $J_1$ : 3.5 Hz; $J_2$ : 3.5 Hz)	5.18, <i>dd</i> ( $J_1$ : 3.5 Hz; $J_2$ : 3.5 Hz)	5.19, <i>dd</i> ( $J_1$ : 3.5 Hz; $J_2$ : 3.5 Hz)



**Figura 34.** Ampliaciones de los espectros de RMN- $^1\text{H}$  a campo bajo de: a) 3 $\beta$ -palmitato de 7 $\beta$ -hidroxiolean-12-eno, b) CRLB03, c) CRLB04.

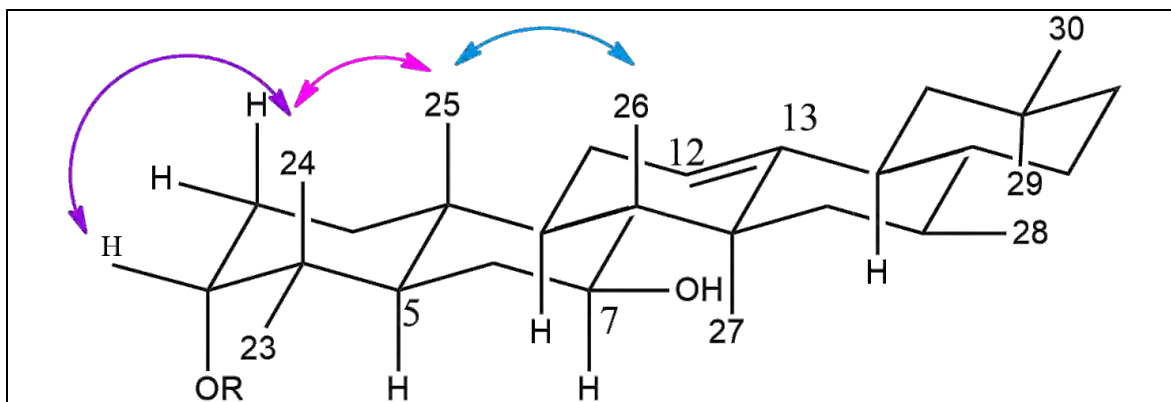
El espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  del compuesto CRLB04 también fue idéntico al del compuesto de referencia y CRLB03 (ver tabla 17, página 50), por lo que se estudio la estereoquímica del material en base al carbono C3 del compuesto CRLB04.

Primeramente, los valores de las constantes de acoplamiento entre H-3 y H-2<sub>ax</sub> y H-2<sub>ec</sub> están dentro de los rangos de acoplamientos axial-ecuatorial (2,0-4,0 Hz) y ecuatorial-ecuatorial (2,0-4,0 Hz) respectivamente, pero alejadas del rango de acoplamientos axial-axial (6,0-13,0 Hz))(Simon y Clerc, 1977). Esto colocaría al hidrógeno H-3 en posición ecuatorial y por tanto  $\beta$ , y en consecuencia, al átomo de oxígeno (esterificado) en posición  $\alpha$ -axial. Para corroborar este razonamiento se analizó el espectro NOESY de CRLB04 (5,40-3,80) ppm (figura 35).



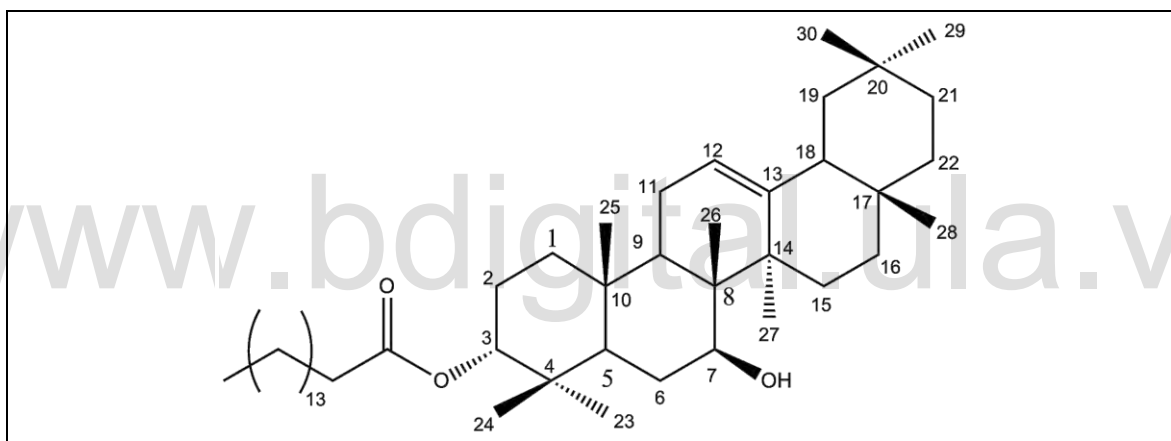
**Figura 35.** Ampliación del espectro NOESY del compuesto CRLB04.

En el espectro NOESY se logró determinar la estereoquímica en la posición 3 del compuesto CRLB04. El protón H3 se correlaciona con los protones de los metilos H24, H25 y H26 (figura 36), quedando su posición establecida por encima del plano, por lo que el grupo éster se halla debajo del plano en posición  $\alpha$ -axial. Adicionalmente, no se observa la interacción H3-H5 característica de la estereoquímica inversa. Los hidrógenos H7 y H12 en CRLB04 muestran las mismas correlaciones que en los otros compuestos.



**Figura 36.** Diagrama de la correlación del protón H3 del compuesto CRLB04.

En base a lo discutido anteriormente se establece que el compuesto CRLB04 es el 3 $\alpha$ -palmitato de 7 $\beta$ -hidroxiolean-12-eno (figura 37).



**Figura 37.** Diagrama molecular de CRLB04 (3 $\alpha$ -palmitato de 7 $\beta$ -hidroxiolean-12-eno).



## 10. Conclusiones.

- Del estudio parcial del extracto de diclorometano de las hojas de *Phthirusa stelis* (L). Kuijt se aisló la muestra CRLB01 y se identificó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas un total de cuatro compuestos:
  - ✓ Dotriacontano.
  - ✓ 2-(Tetradeciloxi)etil éster del ácido palmítico.
  - ✓ 3,7,11-Trimetil-2,6,10-dodecatrien-1-ol.
  - ✓ 7,3,4-Trimetoxiquercetina.
- Mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se identificaron en el extracto de tetrahidrofurano de las hojas de *Phthirusa stelis* (L). Kuijt dos compuestos de la muestra CRLB02:
  - ✓ 3-Tridesil-éster del ácido butírico.
  - ✓ 2-Tetrahidrofurilmetil-éster del ácido valérico.
- Utilizando técnicas espectroscópicas se elucidó la estructura correspondiente a la muestra CRLB03, aislada del extracto de tetrahidrofurano de las hojas de *Phthirusa stelis* (L). Kuijt, identificada como: 3 $\beta$ -palmitato de 7 $\beta$ -hidroxiolean-12-eno.
- Mediante técnicas espectroscópicas se elucidó la estructura de: 3 $\alpha$  -palmitato de 7 $\beta$  -hidroxiolean-12-eno aislada del extracto de tetrahidrofurano de las hojas de *Phthirusa stelis* (L). Kuijt correspondiente a la muestra CRLB04.

## 11. Recomendaciones.

- Culminar con el estudio de las fracciones restantes del extracto de tetrahidrofurano de las hojas de *Phthirusa stelis* (L). Kuijt
- Completar el estudio fitoquímico de las hojas de *Phthirusa stelis* (L). Kuijt realizando el estudio del extracto de metanol.
- Realizar el estudio fitoquímico de otras partes de la planta.
- Realizar ensayos biológicos de los metabolitos aislados del estudio de los extractos de las hojas de *Phthirusa stelis* (L). Kuijt.

www.bdigital.ula.ve

## 12. Referencias Bibliográficas.

1. Bodenhausen, G.; Ruben, D.J. (1980). Natural abundance nitrogen-15 NMR by enhanced heteronuclear spectroscopy. *Chemical Physics Letters*, 69: 185-189.
2. Bonner, W.; Castro, A. (1974). *Química Orgánica Básica*. Alhambra, S.A. Madrid. 579 p.
3. Calderón, R. (1979). Loranthaceae. *En: Rzedowsking, G y Rzedowsking, C. Flora fanerógamica del Valle de México*, CECSA, México, D.F. 118-127 pp.
4. Calvin, C.L.; Wilson, C.A. (2006). Comparative morphology of epicortical roots in Old and New World Loranthaceae with reference to root types, origin, patterns of longitudinal extension and potential for clonal growth. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, 201: 51–64.
5. Castillo, E.; Martínez, I. (2007). *Manual de Fitoterapia*. Elsevier-Masson. Barcelona. 23-26.
6. Costa, R. (2009). Purificacao, caracterizacao Parcial e Aplicacoes Biomédicas de una Lectina de Folhas de *phthirusa pyrifolia* (H.B.K) Eichl. Centro de Ciencias Biológicas, Universidad de Federal de Pernambuco. Recife-Brasil. 81 p.
7. Costa, R.; Vaz, A.; Oliva, M.; Coelho, L.; Correira, M.; Carneiro-da-Cunha, M. (2010). A new mistletoe *Phthirusa pyrifolia* leaf lectin with antimicrobial properties. *Process in Biochemistry*, 45: 526-533.
8. Costa, R.; Vaz, A.; Correira, M.; Carneiro-da-Cunha, M. (2015). Phytochemical screening of *Phthirusa pyrofilia* leaf extracts: Free radical scavenging activities and environmental toxicity. *South African Journal of Botany*, 99:132-137.
9. Costa, M.; Araújo, V.; Neves, E.; Correira, M.; Porto, A.; Carneiro-da-Cunha, M. (2016). Sub-chronic effects of a *Phthirusa pyrifolia* aqueous extract on reproductive function and comparative hormone levels in male rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 6(3): 202-210.
10. Cumaná, L.; Sanabria, M.; Leopardi, C.; Guevara de Franco, Y. (2010). Plantas vasculares de los manglares del estado Sucre, Venezuela. *Acta Botánica Venezuelica*, 33(2): 273-298.
11. Duddeck, H.; Dietrich, W.; Toth, G. (1998). *Elucidación estructural mediante RMN*. Springer-Verlag Ibérica. Barcelona. 211 p.
12. Dueñas, H.; Roselli, P. (2001). Sinópsis de las Loranthaceae de Colombia. *Caldesia*, 23(1): 81-99.
13. Guarnizo, A.; Martínez, P. (2009). *Experimentos de química orgánica. Con enfoque en Ciencia de la Vida*. Elizcom. Armenia, Colombia. 50 p.

14. Harborne, J.B. 1992. *Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plants analysis*. University of Reading, UK. Chapman & Hall. London. 302p.
15. Henning, S. (2008). *Parasitic flowering plants*. AAGE. V Jansens Fonde. Leiden Boston. 425 p.
16. Heywood, V. (1978). *Flowering plants of the world*. Oxford University Press, Oxford, Inglaterra. 76-84 p.
17. Hokche, O.; Berry, P.E.; Huber, O. (2008). *Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela*. Fundación Instituto Botánico de Venezuela. Caracas. 445 p.
18. Hung, M. (1982). *Estudio fitoquímico de la Stevia lucida Lag*. Tesis de Licenciatura en Química. Universidad de los Andes. Mérida-Venezuela.
19. Kabir, S.; Hasan, I.; Abu, Z. (2014). *Lectinas de plantas medicinales: caracterizaciones y actividades biológicas*. 42(18): 339-356.
20. Kashiwada, Y.; Wang, H.-K.; Nagao, T.; Kitanaka, S.; Yasuda, I.; Fujioka, T.; Yamagishi, T.; Cosentino, L.M.; Kozuka, M.; Okabe, H.; Ikeshiro, Y.; Hu, C.-Q., Yeh, E.; Lee, K.-H. (1998). *Anti-AIDS Agents*. 30. *Anti-HIV activity of oleanolic acid, pomolic acid, and structurally related triterpenoids*. **Journal of Natural Products**, **61**: 1090-1095.
21. Krishnaveni, T.; Valliappan, R.; Selvaraju, R.; Prasad, N. (2016). *Preliminary phytochemical, physicochemical and antimicrobial studies of Loranthus elasticus of Loranthaceae family*. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, **5**: 07-11.
22. López, M.; Triana, J.; Pérez, F.; Torres, M. (2005). *Métodos físicos de separación y purificación de sustancias orgánicas*. Universidad de las Palmas de Gran Canarias-España. 24-34 p.
23. Llontop, N.G.; Rojas, L.J. (2018). *Tamizaje fitoquímico y efecto antifúngico in vitro del extracto fluido de hojas de Phthirusa robusta Rusby (suelda con suelda) frente a Candida albicans*. Tesis de Bachiller en Farmacia y Bioquímica. Universidad de Trujillo. Perú. 21-25.
24. Marcano, D.; Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica orgánica*. Universidad Central de Venezuela. Editorial Torino. Caracas. 586 p.
25. Martínez, A. (2005). *Flavonoides*. Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, Medellín. 76 p.

26. Mora, F.; Rios, N.; Rojas, L.; Diaz, T.; Velazco, J.; Carmona, J. (2011). Chemical composition and *in vitro* antibacterial activity of the essential oil of *Phthirusa adunca* from Venezuelan Andes. *Natural Product Communications*, 6: 1051-1053.
27. Morales, E.J. (2016). Estudio fitoquímico de *Phthirusa stelis* (L.) Kujit. Trabajo Especial de Grado, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes. Mérida-Venezuela. 89 p.
28. Morrison, R.T; Boyd, R.N. (1996). *Química Orgánica*. 5ª edición. Pearson Educación. Ciudad de México. 559-610 p.
29. Paiva, P.; Gomes, F.; Napoleao, T.; Correia, M.; Coelho, L. (2010). Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. *Current Research*. 396-406.
30. Polesna, L.; Polesny, Z.; Clavo, M.; Hansson, A.; Kokoska, L. (2011). Ethnopharmacological inventory of plants used in Coronel Portillo Province of Ucayali Department, Perú. *Pharmaceutical Biology*. 49(2): 125-136.
31. Puentes, M.A. (2018). Estudio fitoquímico de *Phthirusa stelis* (L.) Kujit Parte 2. Trabajo Especial de Grado, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes. Mérida- Venezuela. 58 p.
32. Pulido, J. 2017. Plantas medicinales silvestres y/o naturalizadas en la Península de Araya, Estado Sucre, Venezuela. *Saber*, Universidad de Oriente. 29: 326-339.
33. Reyna, L.; Medrano, A.; Chota, T.; Malla, J. (2004). Aporte químico del estudio de la *Phthirusa pyrifolia* (H.B.K) Eichler <<sueda con sueda>>. *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* 7(1): 3-6.
34. Rodríguez, M.; Hasegawa, M.; González-Mújica, F.; Motta, N.; Castillo, A.; Castillo, J.; Zea, E.; Mora, K.; Sousa, L.; González, A.; Camejo, D. (2008). Antidiabetic and antiradical activities of plants from Venezuelan Amazon. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 18(3): 331-338.
35. Romero, M.; Blunden, G.; Patel, A.; Armstrong, N.; Meléndez, P.; Cuervo, A. (2007). Betaines and *N*-Methylprolines from Venezuelan Plants. *Natural Product Communications*. 2(8): 863-868.
36. Russel, R.; Nickrent, D. (2008). Evolutionary relationships in the showy mistletoe family (Loranthaceae). *American Journal of Botany*, 95(8): 1015-1029.
37. Sanz, J.; Cañigueral, S. (2011). Plant use in the medicinal practices known as “stric diets” in Chazuta Valley (Peruvian Amazon). *Journal of Ethnopharmacology*, 137: 271-288.

38. Saxena, M.; Saxena, R.; Nema, R.; Singh, D.; Gupta, A. (2013). Phytochemistry of Medicinal Plants. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, 1: 2278-4136.
39. Shimatzu Inc. 2016. SHIMATZU/GCMS-Gas Cromatografía Mass Spectrometry, Software GCMS Solution. Version 4.4. Shimatzu. Santa Clara-CA-USA.
40. Silverstein, R.M.; Bassler, G.C.; Morrill, T.C. (1991). Identificación Espectrométrica de Compuestos Orgánicos, 5<sup>th</sup> Ed. Editorial Diana. México. 475 p.
41. Simon, W.; Clec, T. (1977). Elucidación Estructural de Compuestos Organicos por Métodos Espectroscópicos . Tomo I (Tablas). Editorial Alhambra. Madrid, España. 95p.
42. Smithsonian Tropical Research Institute. 2006. STRI Herbarium (SCZ). [http://biogeodb.stri.si.edu/herbarium/species/19668/?search\\_key=phthirusa](http://biogeodb.stri.si.edu/herbarium/species/19668/?search_key=phthirusa)
43. Recuperado el 27 de Mayo de 2012.
44. Taiz, L.; Zeiger, E. (2006). Fisiología Vegetal. Volumen I. Publicaciones de la Universidad Jaume I. Castelló de la Plana, España. 533 p.
45. Toledo, C. (1978). Los géneros venezolanos y Brasileños de las Lorantáceas. *Rodriguésia*, 30(46): 27-31.
46. Toledo, C. (1982). Loranaceae en Flora de Venezuela Vol. IV, Segunda Parte. Caracas, Venezuela: Instituto Nacional de Parques, Dirección de Investigaciones Biológicas. 40-77
47. Valadeau, C.; Pabon, A.; Deharo, E.; Albán, J.; Estevez, Y.; Lores, A.; Rojas, R.; Gamboa, D.; Suavain, M.; Castillo, D.; Bourdy, G. (2009). Medicinal plants from the Yanessa (Perú): Evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. 123(3):413-422.
48. Valadeau, C.; Castillo, J.; Sauvian, M.; Lores, A.; Bourdy, G. (2010). The rainbow hurts my skin: medical concepts and plants uses among the Yanessa (Amuesha), en Amazonian Peruvian ethnic group. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(1): 175-192.
49. Vásquez, R. 1992. Sistemática de las plantas medicinales de uso frecuente en el área de Iquitos. *Folia Amazonica*, 4(1): 20-30.
50. Veiga, J.; Scudeller, V. (2015). Etnobotánica e medicina popular no tratamento de malaria e males asociados na comunidade ibeirinha Juliao Rio Negro (Amazonia Central). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 17(4) supl. 1: 742-743.
51. Wade, L.G. 2004. Química Orgánica, 5<sup>a</sup> Edición. Pearson Prentice Hall. Madrid. 490-1172 p.
52. Waller, G.R. (1972). Biochemical Applications of Mass Spectrometry. Interscience. New York. 205-208 pp.

53. Yazbek, P.; Tezoto, J.; Casas, F.; Rodrigues, E. (2016). Plants used during maternity, menstrual cycle and other women's health conditions among Brazilian cultures. *Journal of Ethnopharmacology*, 179: 310-331.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

### 13. Glosario.

**Bejucos:** Tallo largo, fuerte y delgado que se desprende de algunas plantas tropicales.

**Catáfila:** Hoja modificada, generalmente incolora que presentan los bulbos y los rizomas.

**Cimosa:** Inflorescencia definida

**Connadas:** Se dice connados los órganos o partes orgánicas, que, pudiéndose hallar separados, están unidos congénitamente.

**Corimbo:** (Tipos de hoja) en los corimbos todas las flores están colocadas a lo largo de un eje floral, pero, a diferencia del racimo, los péndulos tienen diferente longitud de forma que todas las flores quedan a la misma altura.

**Decocción:** método de extracción de los principios activos de una planta consistente en hacerla hervir en agua a fuego lento desde 3 minutos hasta 30 minutos, generalmente sobre las partes más duras de la misma desmenuzadas (raíces, tallo, corteza o semillas), y dejarla reposar con un tiempo mínimo de 10 minutos.

**Drupa:** (Tipo de fruto carnosos) son frutos con el mesocarpo carnosos y el endocarpo endurecido en forma de hueso, dentro del cual se encuentra la semilla.

**Eluyente:** Disolvente utilizado en técnicas de cromatografía para extraer un componente que se quiere separar de otra fase.

**Glabro:** se dice de la planta o parte de ella no tiene pelos.

**Inflorescencia:** Las flores no se presentan en la mayoría de los casos aisladas.

**Muérdago:** Es una planta semiparásita, ya que sus raíces abrazan la corteza de los árboles y penetran en ella para alimentarse de su sabia. Los árboles o arbustos huéspedes suelen ser frondosos o resinosos, tales como coníferas y rosáceas.

**Mucilaginoso:** Sustancia vegetal viscosa.

**Oblongo:** (Tipo de hoja) tipo de hoja que muestra la misma amplitud a lo largo de su limbo.

**Panícula:** (Tipo de inflorescencia) las panículas están formadas por racimos agrupados.

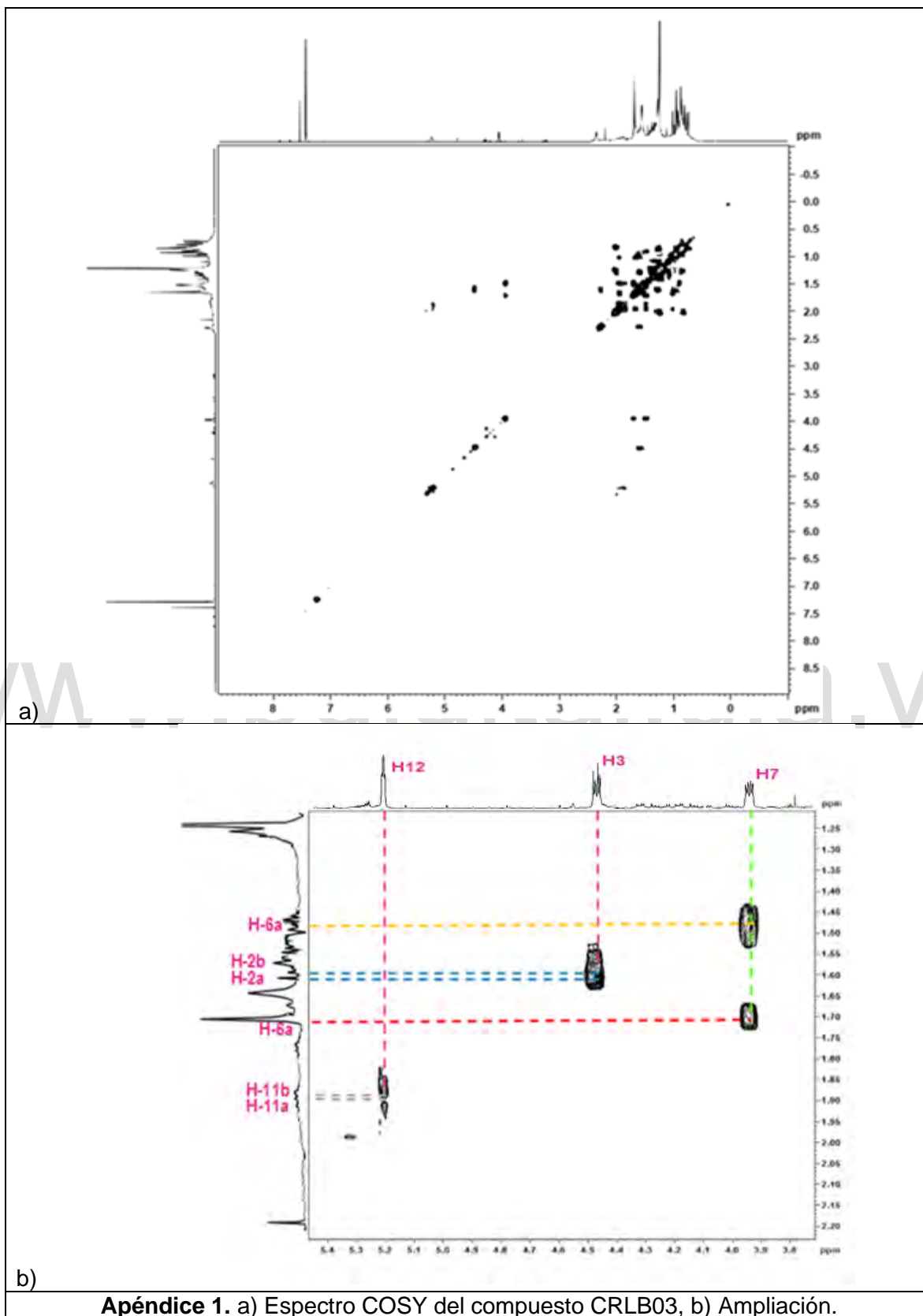
**Perianto:** Es una estructura floral que corresponde a la envoltura que rodea a los órganos sexuales; constituyente la parte no reproductiva de la flor. Está formado por la corola (pétalos) y el cáliz (sépalos).

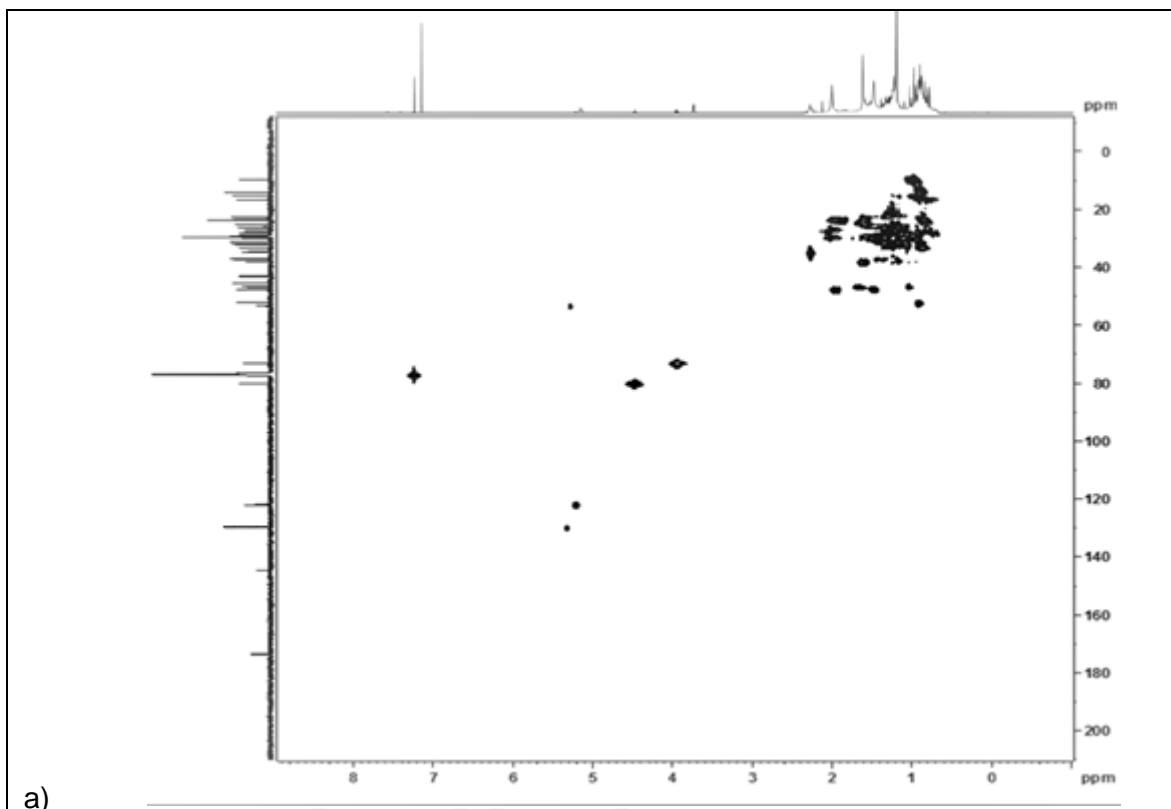
**Pubescencia:** (parte de la planta) que presenta la cualidad de pubescente. Fenómeno que consiste en la aparición de pelos sobre la superficie de la planta. Responden a un fenómeno adaptativo de los vegetales.

**Sésil:** Que vive fijado a una estructura, como una roca, una concha u otro organismo.

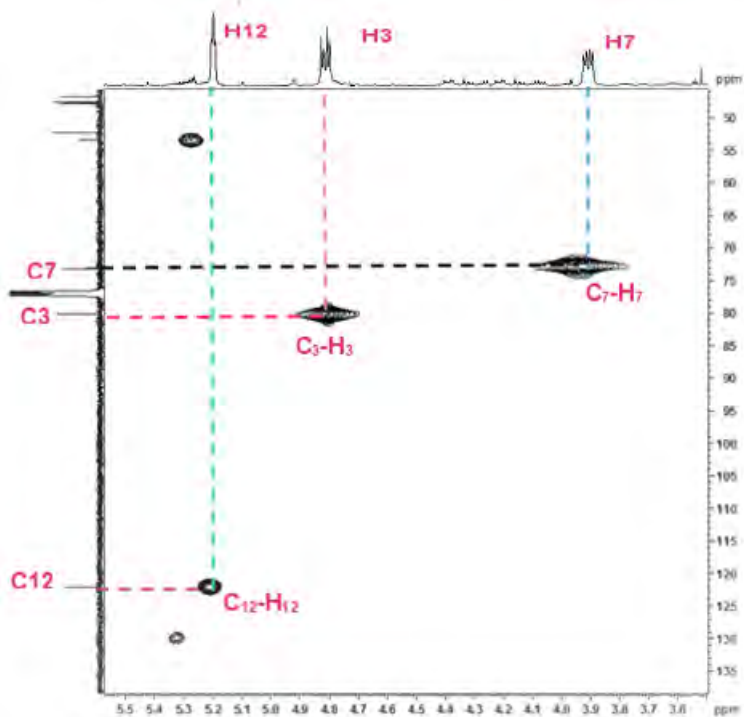


[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)  
**APÉNDICE**



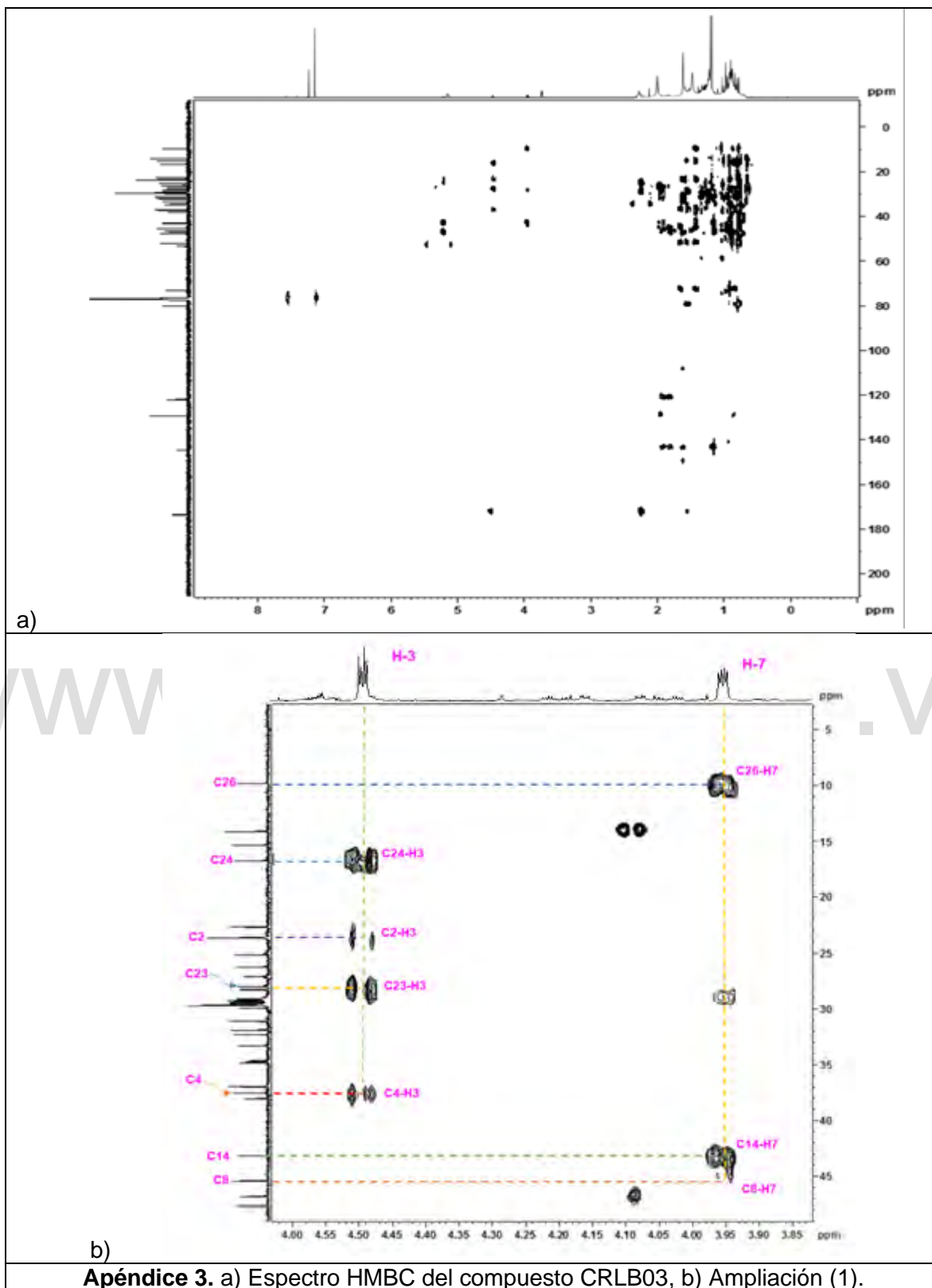


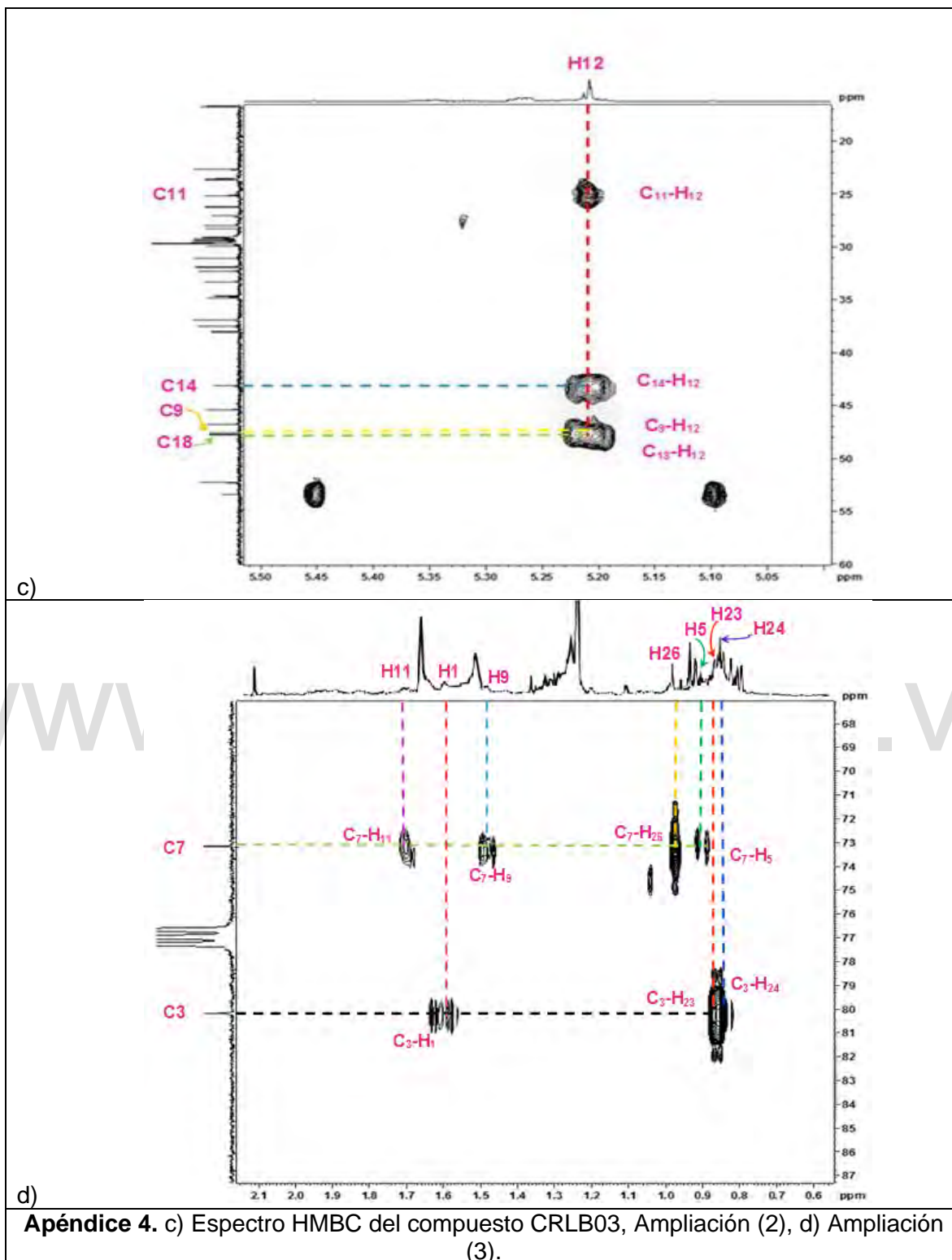
a)

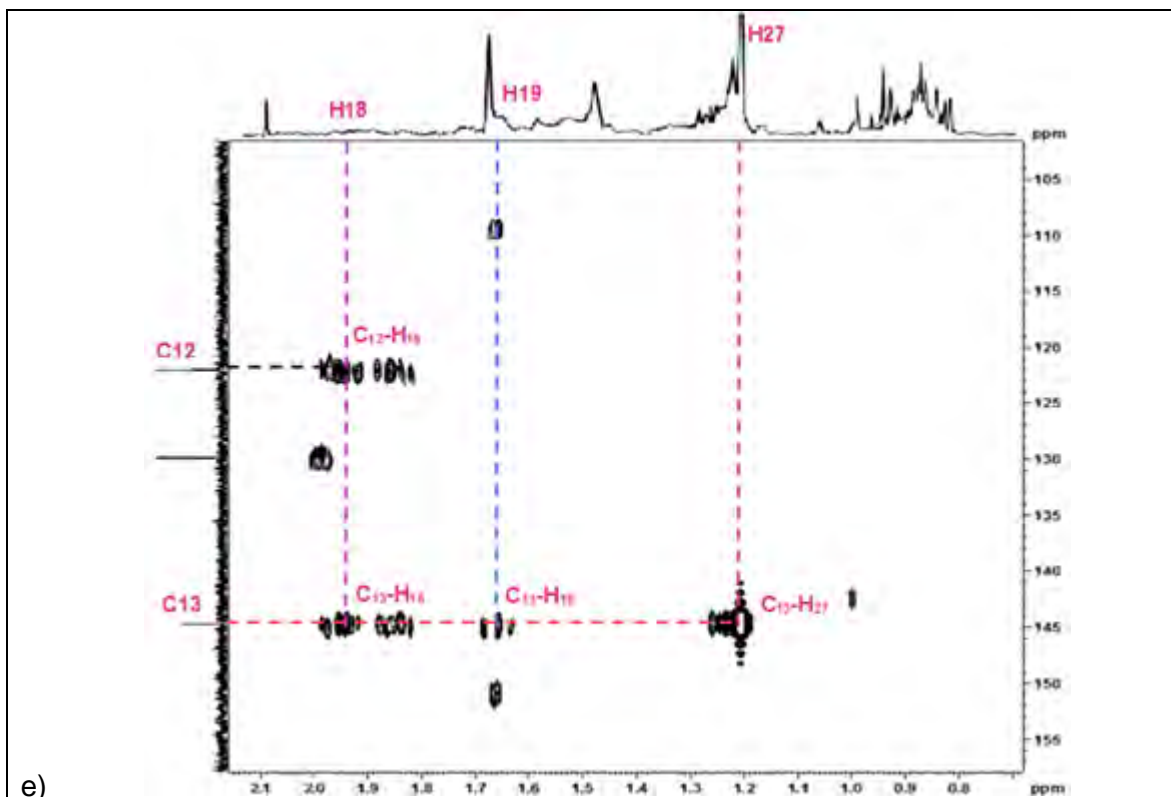


b)

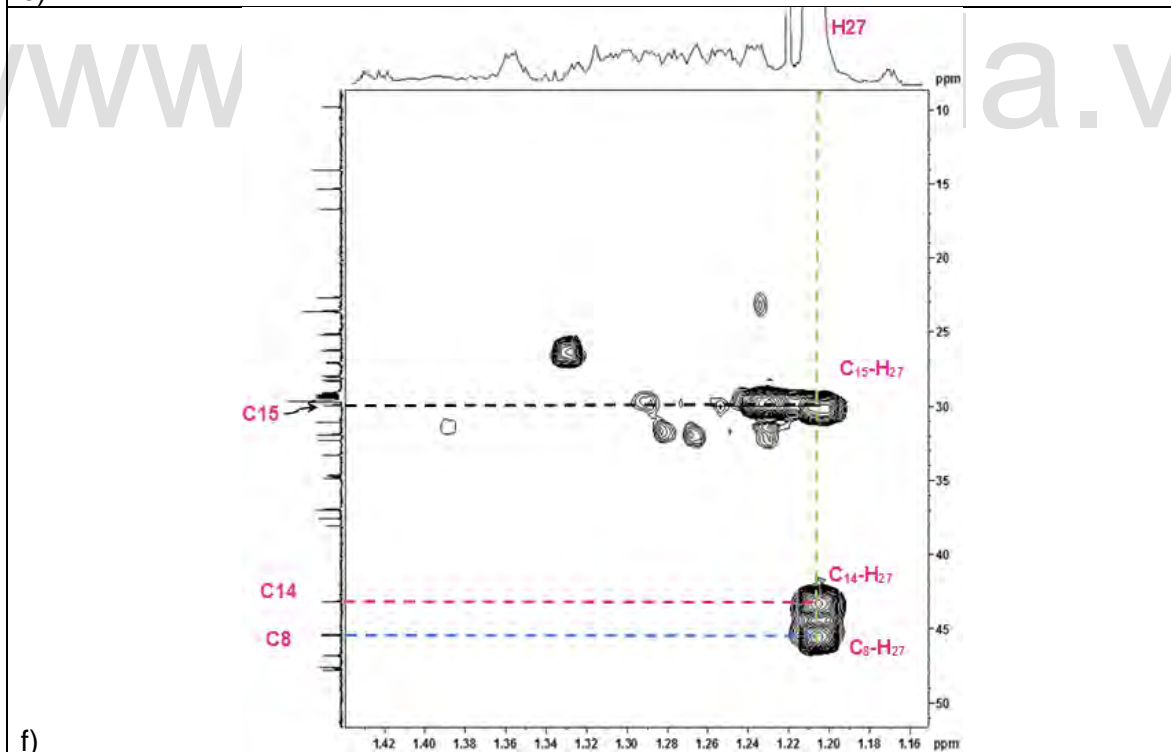
**Apéndice 2.** a) Espectro HMQC del compuesto CRLB03. b) Ampliación.







e)



f)

Apéndice 5. e) Espectro HMBC del compuesto CRLB03, Ampliación (4), f) Ampliación (5).

Cn	$\delta_c$ (ppm)	Tipo	H	$\delta_H$ (ppm)
C <sub>1'</sub>	173,67	-CO <sub>2</sub>	3	4,45
			2'	2,28
C <sub>2</sub>	23,58	-CH <sub>2</sub>	3	4,45
C <sub>3</sub>	80,18	-CH(OR)	1	1,60
			23	0,92
			24	0,85
C <sub>7</sub>	73,16	-CH(OH)-	5	0,90
			9	1,48
			11	1,71
			26	0,98
C <sub>8</sub>	45,41	>C<	7	3,95
C <sub>9</sub>	47,60	>CH-	12	5,18
C <sub>11</sub>	25,16	-CH <sub>2</sub>	12	5,18
C <sub>12</sub>	122,45	=CH-	18	1,97
C <sub>13</sub>	144,70	=C<	18	1,97
			19	1,65
			27	1,21
C <sub>14</sub>	43,14	>C<	7	3,95
			12	5,18
C <sub>15</sub>	29,94	-CH <sub>2</sub>	27	1,25
C <sub>18</sub>	47,77	>C-	12	5,18
C <sub>23</sub>	27,99	-CH <sub>3</sub>	3	4,45
C <sub>24</sub>	16,73	-CH <sub>3</sub>	3	4,45
C <sub>25</sub>	15,36	-CH <sub>3</sub>	9	1,51
C <sub>26</sub>	9,84	-CH <sub>3</sub>	7	3,95

**Apéndice 6.** Correlaciones <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H relevantes en el espectro HMBC del compuesto CRLB03.

