

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA



**Aislamiento, Purificación y Caracterización de los Metabolitos Secundarios
Mayoritarios Presentes en la especie *Tachigali Cavipes* (Spruce ex Benth.)**

J.F.Macbr.

Trabajo Especial de Grado presentado
ante la Ilustre Universidad Central de
Venezuela, por la Br. Ricardo A. Higuera
C., para optar al título de Licenciado En
Química.

Tutor: Dra. María Rodríguez

Caracas, octubre 2017

Los abajo firmantes designados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del Trabajo Especial de Grado titulado: **Aislamiento, Purificación y Caracterización de los Metabolitos Secundarios Mayoritarios Presentes en la especie *Tachigali Cavipes* (Spruce ex Benth.) J.F.Macbr**” presentado por Br. Ricardo Alejandro Higuera Coelho C.I: 23.637.220, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar al título de Licenciado en Química.



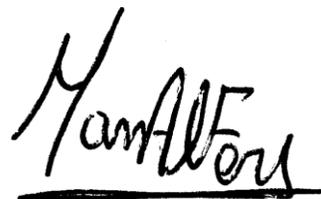
María Rodríguez

(Tutor)



Katuska Chávez

(Jurado Principal)



Manuel Fermin

(Jurado Principal)

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mis Padres, María Teresa y Raúl, por todo el apoyo que me han brindado a lo largo de mi vida, por todo el esfuerzo que han hecho por mí para poder alcanzar cada una de mis metas, este logro también les pertenece, los quiero eternamente.

A mis tíos, primos y abuelos por todas aquellas cosas que han hecho por mí, por darme su ayuda y apoyo, gracias por estar conmigo.

A Yamilet Rodríguez por ser aquella personal incondicional que me acompañó desde el principio de la carrera, brindándome su apoyo y su amistad, donde compartimos grandes momentos. Nunca olvidaré esta gran aventura que hemos compartido juntos de estudiar química, gracias, muchísimas gracias por todo lo que has hecho y haces por mí, por estar allí cuando más lo necesité, te quiero un montón.

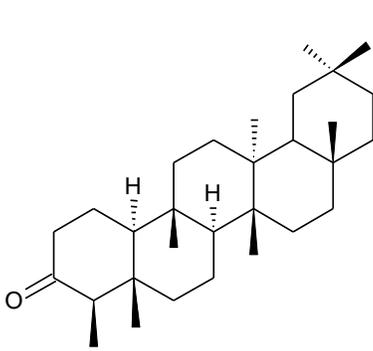
A Jessica Goncalves y Paola Hernández por darme la fuerza que necesitaba para seguir adelante en los momentos donde pareciera que todo estaba perdido, y por estar allí cuando más lo necesite. Las quiero y aprecio mucho.

A la Universidad Central de Venezuela por darme la oportunidad de poder ser parte de esta gran casa de estudio, y darme mi formación como profesional. A mi tutora María Rodríguez por brindarme su apoyo y conocimientos a lo largo de mi trabajo especial de grado y al grupo de productos naturales, en especial Neydimar, Sofía y Luis, por todos aquellos momentos que compartimos juntos en nuestros días de trabajo en el laboratorio, que hicieron agradable cada día de trabajo, con sus ocurrencias y bromas, gracias por todo.

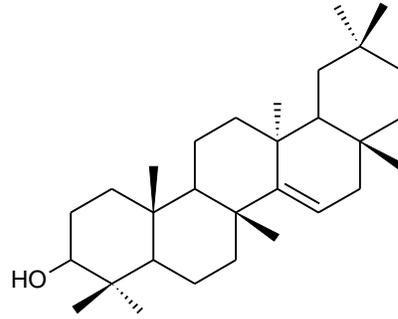
RESUMEN

Se realizó el estudio fitoquímico de las hojas y ramas de la especie *Tachigali Cavipes* (Spruce ex Benth.) J.F.Macbr.(Leguminosae), colectada en el río Sipapo, vía Isla Ratón, municipio Autana, estado Amazonas. A partir del extracto metanólico de las hojas y ramas de esta especie, se obtuvo la fracción butanólica (RTcBuOH) y la fracción redisuelta en metanol (RTcMeOH). De la fracción butanólica y metanólica se lograron aislar tres compuestos denominados: compuesto **I**, compuesto **II** y compuesto **IV**, además en la fracción metanólica se logró aislar el compuesto **I'** y el compuesto **III**, los cuales no pudieron ser identificados debido a la presencia de ceras que dificultaron su purificación. De la fracción no polar RTcM1 separada a partir de la fracción butanólica, se lograron aislar tres compuestos del tipo terpenoidal, el compuesto **A** identificado como friedelina, el compuesto **B** que se presentó como una mezcla de taraxerol y un éster metílico de ácido graso, denominado compuesto **B₁** y el compuesto **C**, el cual se identificó como β -sitosterol. Adicionalmente, se realizó la comparación por cromatografía de capa fina del extracto metanólico de la especie *T. cavipes* con terpenos y esteroides aislados de las especies *T. paniculata* y *T. chrysophylla*, identificando la presencia de los triterpenos: β -sitosterol, estigmasterol y lupenona, en la especie en estudio.

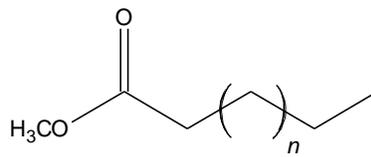
Estos compuestos, se reportan por primera vez para esta especie y sus estructuras fueron caracterizadas por técnicas espectroscópicas de RMN.



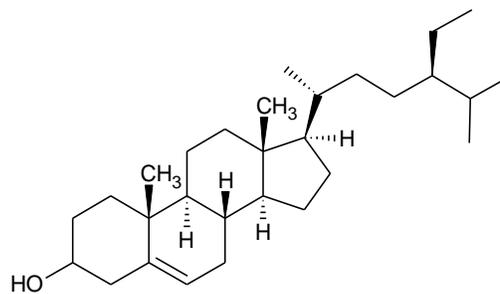
Compuesto **A**: Friedelina.



Compuesto **B**: Taraxerol.



Compuesto **B1**: éster metílico de ácido graso.



Compuesto **C**: β -sitosterol.

Palabras clave: Fitoquímica, terpenos, *Tachigali*

1 CONTENIDO

2	INTRODUCCIÓN.....	1
3	ANTECEDENTES.....	7
3.1	LA FAMILIA LEGUMINOSAE.....	7
3.2	GENERO DALBERGIA	8
3.2.1	<i>Dalbergia candenatensis</i>	8
3.2.2	<i>Dalbergia louvelii</i>	10
3.2.3	<i>Dalbergia odorifera</i>	13
3.2.4	<i>Dalbergia olivari</i>	17
3.2.5	<i>Dalbergia parviflora</i>	18
3.2.6	<i>Dalbergia sisso</i>	22
3.3	GENERO TACHIGALI.....	25
3.3.1	<i>Tachigali paniculata</i>	27
3.3.2	<i>Tachigali myrmecophyla</i>	29
3.3.3	<i>Tachigali cavipes (Spruce ex Benth)</i>	31
4	JUSTIFICACIÓN.....	32
5	OBJETIVOS.....	33
5.1	Objetivo General:	33
5.2	Objetivos Específicos:	33
6	PARTE EXPERIMENTAL	34
6.1	Materiales.....	34
6.1.1	<i>Material cromatográfico</i>	34
6.1.2	<i>Solventes</i>	34
6.1.3	<i>Solventes para análisis de RMN</i>	34

6.1.4	Reveladores.....	35
6.1.5	Equipos.....	35
6.2	Material vegetal.....	36
6.3	Extracción y aislamiento de los metabolitos secundarios.....	37
6.3.1	Tratamiento de las ramas y hojas de <i>Tachigali Cavipes</i>	38
6.3.2	Tratamiento de la Fracción RTcBuOH:.....	40
6.3.3	Tratamiento de la Fracción RTcMeOH:.....	47
7	Resultados y discusión.....	51
7.1	Comportamiento cromatográfico del extracto de <i>Tachigali cavipes</i>	51
7.2	Aislamiento e Identificación de compuestos.....	57
7.2.1	Compuesto I':.....	57
7.2.2	Compuesto I:.....	58
7.2.3	Compuesto II:.....	59
7.2.4	Compuesto III:.....	59
7.2.5	Compuesto IV:.....	60
7.2.6	Compuesto A:.....	62
7.2.7	Compuesto B:.....	67
7.2.8	Compuesto C.....	76
7.3	Comparación cromatográfica de los compuestos aislados de las especies <i>Tachigali chrysophyllia</i> , <i>Tachigali paniculata</i> y <i>Tachigali cavipes</i>	83
8	Conclusiones.....	87
9	Recomendaciones.....	88
10	Bibliografía.....	89
11	Anexos.....	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura básica de un Flavonoide.	3
Figura 2 Estructura del Isopreno	5
Figura 3 Especie Tachigali densiflora.....	25
Figura 4 Flores típicas para las especies del género Tachigali.....	26
Figura 5 Distribución geográfica del genero Tachigali.....	26
Figura 6 Fotografía del espécimen Tachigali Cavipes (Spruce ex Benth).....	36
Figura 7 CCF para RTcBuOH, sistema de solvente AcOEt/Agua/AcOH/HCOOH (100:26:12:12), Revelador AS.	40
Figura 8 CCF Sistema de solvente Cloroformo/CH ₃ COOH/MeOH/H ₂ O (64:32:12:8), revelador AS.	52
Figura 9 CCF Sistema de solvente Cloroformo/CH ₃ COOH/MeOH/H ₂ O (64:32:12:8), revelador KOH.	52
Figura 10 CCF Sistema de solvente AcOEt/MeOH/H ₂ O (100:13.5:10), revelador KOH.	53
Figura 11 CCF Sistema de solvente Cloroformo/MeOH/H ₂ O (70:30:3), revelador AS. ...	54
Figura 12 CCF Sistema de solvente Hexano/AcOEt/HCOOH (75:25:1), revelador AS. .	55
Figura 13 CCF Sistema de solvente Tolueno/AcOEt (75:25), revelador AS.	55
Figura 14 Estructura del compuesto A (Friedelina)	62
Figura 15 Espectro de RMN ¹ H del compuesto A (CDCl ₃ , 300MHz).....	63
Figura 16 Espectro de RMN ¹³ C del compuesto A (CDCl ₃ , 75MHz).	64
Figura 17 Espectro de DEPT-135 del compuesto A (CDCl ₃ , 75MHz).	65
Figura 18 Espectro de RMN ¹³ C del compuesto A entre 43 y 32 ppm (CDCl ₃ , 75MHz). .	65

Figura 19 Estructura del Compuesto B (Taraxerol)	68
Figura 20 Estructura del compuesto B ₁	68
Figura 21 Espectro de RMN ¹ H del compuesto B (CDCl ₃ , 300MHz).....	69
Figura 22 Espectro de RMN ¹ H a campo alto del compuesto B y C (CDCl ₃ , 300MHz)...	70
Figura 23 Espectro de RMN ¹³ C del compuesto B y C a campo bajo (CDCl ₃ , 75MHz). .	70
Figura 24 Espectro de RMN ¹³ C del compuesto B (CDCl ₃ , 75MHz).	71
Figura 25 Espectro de RMN ¹³ C del compuesto B a campo alto (CDCl ₃ , 75MHz).....	72
Figura 26 Espectro de RMN ¹³ C del compuesto B ₁ y B a campo alto (CDCl ₃ , 75MHz).	73
Figura 27 Compuesto C. (β-sitosterol)	76
Figura 28 Espectro de RMN ¹ H del compuesto C a campo alto (CDCl ₃ , 300MHz).....	77
Figura 29 Espectro de RMN ¹ H del compuesto C a campo bajo (CDCl ₃ , 300MHz).....	78
Figura 30 Espectro de RMN ¹³ C del compuesto C (CDCl ₃ , 75MHz).	79
Figura 31 Espectro de DEPT-135 del compuesto A (CDCl ₃ , 75MHz).	80
Figura 32 Estructura de la Lupenona.	84
Figura 33 Estructura del Estigmasterol.	84
Figura 34 Estructura del β-sitosterol.....	85
Figura 35 CCF sistema de solvente Tolueno/AcOEt 75:25, agente revelador AS.	86
Figura 36 CCF comparativo, sistema de solvente Hexano/acetato/ácido fórmico 75:25:1, agente revelador AS.	86

ÍNDICE DE EQUEMAS Y TABLAS

Esquema 1 Tratamiento general realizado a las hojas y ramas de la especie Tachigali cavipes.....	37
Esquema 2 Proceso realizado al extracto metanólico crudo de las hojas y ramas de Tachigali cavipes.	39
Esquema 3 Tratamiento de la fracción RTcBuOH. Se indican la naturaleza química de los compuestos mayoritarios observados en CCF para cada fracción	41
Esquema 4 Segundo tratamiento cromatográfico realizado a la fracción RTcBuOH. Se indican la naturaleza química de los compuestos mayoritarios observados en CCF para cada fracción.	42
Esquema 5 Uniones Realizadas de las subfracciones obtenidas en ambos procesos cromatográficos realizados para la fracción RTcBuOH	44
Esquema 6 Separación realizada para la Fracción RTcM2.	45
Esquema 7 Separación realizada para la Fracción RTcM2.	47
Esquema 8 Separación para la fracción RTcMeOH.....	50
Tabla 1: Comparación de los datos espectroscópicos para el compuesto A con los datos reportados en la literatura.	66
Tabla 2: Comparación de los datos espectroscópicos para el compuesto B con los datos reportados en la literatura.	74
Tabla 3 Comparación de los datos espectroscópicos para el compuesto B ₁ con datos reportados en la literatura para el ácido hexadecanoico metil ester.	75
Tabla 4 Comparación de los datos espectroscópicos para el compuesto C con datos reportados en la literatura.	81

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Espectro de RMN ^1H del compuesto I' (MeOD, 300MHz).....	95
Anexo 2 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto I' entre 8ppm y 7ppm (MeOD, 300MHz).	96
Anexo 3 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto I' entre 3ppm y 4ppm (MeOD, 300MHz).	97
Anexo 4 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto I' entre 0.7ppm y 3ppm (MeOD, 300MHz).	98
Anexo 5 Espectro de RMN ^1H del compuesto I (MeOD, 300MHz).....	99
Anexo 6 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto I entre 5.6ppm y 7.8ppm (MeOD, 300MHz).	100
Anexo 7 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto I entre 3ppm y 4.2ppm (MeOD, 300MHz).	101
Anexo 8 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto I entre 0.7ppm y 2.8ppm (MeOD, 300MHz).	102
Anexo 9 Espectro de RMN ^1H del compuesto II (MeOD, 300MHz).....	103
Anexo 10 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto II entre 6.3ppm y 8ppm (MeOD, 300MHz).	104
Anexo 11 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto II entre 3ppm y 4.7ppm (MeOD, 300MHz).	105
Anexo 12 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto II entre 0.7ppm y 2.6ppm (MeOD, 300MHz).	106
Anexo 13 Espectro de RMN ^1H del compuesto III (MeOD, 300MHz).....	107

Anexo 14 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto III entre 6.3ppm y 8.2ppm (MeOD, 300MHz).	108
Anexo 15 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto III entre 2.9ppm y 4.8ppm (MeOD, 300MHz).	109
Anexo 16 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto III entre 0.6ppm y 3ppm (MeOD, 300MHz).	110
Anexo 17 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto III (MeOD, 75MHz).	111
Anexo 18 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto III entre 20ppm y 160ppm (MeOD, 75MHz).	112
Anexo 19 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto III entre 120ppm y 130ppm (MeOD, 75MHz).	113
Anexo 20 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto III entre 50ppm y 100ppm (MeOD, 75MHz).	114
Anexo 21 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 3 entre 60 ppm y 80 ppm (MeOD, 75MHz).	115
Anexo 22 Espectro de RMN ^1H del compuesto IV (MeOD, 300MHz).	116
Anexo 23 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto IV entre 6 ppm y 8.1 ppm (MeOD, 300MHz).	117
Anexo 24 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto IV entre 3 ppm y 4.6 ppm (MeOD, 300MHz).	118
Anexo 25 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto IV entre 0.7ppm y 2.5 ppm (MeOD, 300MHz).	119
Anexo 26 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto IV (MeOD, 75MHz).	120
Anexo 27 Espectro de RMN ^1H del compuesto A (CDCl_3 , 300MHz).	121

Anexo 28 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto A entre 2.4 ppm y 0.8ppm (CDCl ₃ , 300MHz).....	122
Anexo 29 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto A entre 2.50ppm y 1.85ppm (CDCl ₃ , 300MHz).....	123
Anexo 30 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto A entre 1.85ppm y 1.15ppm (CDCl ₃ , 300MHz).....	124
Anexo 31 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto A entre 1.15ppm y 0.7ppm (CDCl ₃ , 300MHz).....	125
Anexo 32 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto A (CDCl ₃ , 75MHz).	126
Anexo 33 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto A. (CDCl ₃ , 75MHz). ...	127
Anexo 34 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto A entre 64ppm y 50ppm (CDCl ₃ , 75MHz).....	128
Anexo 35 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto A entre 43ppm y 32ppm (CDCl ₃ , 75MHz).....	129
Anexo 36 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto A entre 31ppm y 4ppm (CDCl ₃ , 75MHz).....	130
Anexo 37 Espectro DEPT 135 de RMN ^{13}C del compuesto A (MeOD, 75MHz).	131
Anexo 38 Ampliación del espectro DEPT de RMN ^{13}C del compuesto A entre 75ppm y 5ppm (CDCl ₃ , 75MHz).....	132
Anexo 39 Ampliación del espectro DEPT de RMN ^{13}C del compuesto A entre 61ppm y 39ppm (CDCl ₃ , 75MHz).....	133
Anexo 40 Ampliación del espectro DEPT de RMN ^{13}C del compuesto A entre 38ppm y 39ppm (CDCl ₃ , 75MHz).....	134
Anexo 41 Ampliación del espectro DEPT de RMN ^{13}C del compuesto A entre 24ppm y 6ppm (CDCl ₃ , 75MHz).....	135

Anexo 42 Espectro de RMN ^1H del compuesto B (CDCl_3 , 300MHz).....	136
Anexo 43 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto B entre 5.5ppm y 3.2ppm (CDCl_3 , 300MHz).....	137
Anexo 44 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto B entre 2.4ppm y 0.8ppm (CDCl_3 , 300MHz).....	138
Anexo 45 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto B (CDCl_3 , 75MHz).	139
Anexo 46 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto B entre 80ppm y 50ppm (CDCl_3 , 75MHz).....	140
Anexo 47 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto B entre 42ppm y 35ppm (CDCl_3 , 75MHz).....	141
Anexo 48 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto B entre 34ppm y 31ppm (CDCl_3 , 75MHz).....	142
Anexo 49 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto B entre 31ppm y 27ppm (CDCl_3 , 75MHz).....	143
Anexo 50 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto B entre 31ppm y 23ppm (CDCl_3 , 75MHz).....	144
Anexo 51 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto B entre 24ppm y 16ppm (CDCl_3 , 75MHz).....	145
Anexo 52 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto B entre 17ppm y 13ppm (CDCl_3 , 75MHz).....	146
Anexo 53 Espectro DEPT 135 de RMN ^{13}C del compuesto B (CDCl_3 , 75MHz).....	147
Anexo 54 Ampliación del Espectro DEPT 135 de RMN ^{13}C del compuesto B entre 120ppm y 50ppm (CDCl_3 , 75MHz).	148
Anexo 55 Ampliación del Espectro DEPT 135 de RMN ^{13}C del compuesto B entre 42ppm y 30ppm (CDCl_3 , 75MHz).	149

Anexo 56 Ampliación del Espectro DEPT 135 de RMN ¹³ C del compuesto B entre 28ppm y 18ppm (CDCl ₃ , 75MHz).	150
Anexo 57 Ampliación del Espectro DEPT 135 de RMN ¹³ C del compuesto B entre 16ppm y 13ppm (CDCl ₃ , 75MHz).	151
Anexo 58 Espectro de RMN ¹ H del compuesto C (CDCl ₃ , 300MHz).	152
Anexo 59 Ampliación del Espectro de RMN ¹ H del compuesto C entre 6,7ppm y 3,6ppm (CDCl ₃ , 300MHz).	153
Anexo 60 Espectro de RMN ¹ H del compuesto C entre 2.4ppm y 0.8ppm (CDCl ₃ , 300MHz).	154
Anexo 61 Espectro de RMN ¹³ C del compuesto C (CDCl ₃ 75MHz).	155
Anexo 62 Ampliación del Espectro de RMN ¹³ C del compuesto C entre 140ppm y 10ppm (CDCl ₃ , 75MHz).	156
Anexo 63 Ampliación del Espectro de RMN ¹³ C del compuesto C entre 75ppm y 30ppm (CDCl ₃ , 75MHz).	157
Anexo 64 Ampliación del Espectro de RMN ¹³ C del compuesto C entre 32ppm y 10ppm (CDCl ₃ , 75MHz).	158
Anexo 65 Espectro DEPT 135 de RMN ¹³ C del compuesto C (CDCl ₃ 75MHz).	159
Anexo 66 Ampliación del Espectro DEPT 135 de RMN ¹³ C del compuesto C entre 125ppm y 50ppm (CDCl ₃ , 75MHz).	160
Anexo 67 Ampliación del Espectro DEPT 135 de RMN ¹³ C del compuesto C entre 45ppm y 10ppm (CDCl ₃ , 75MHz).	161

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

δ	Desplazamiento químico.
<i>m</i>	m.
AcOEt	Acetato de etilo.
CC	Cromatografía en columna.
CCF	Cromatografía de capa fina.
CDCl ₃	Cloroformo deuterado.
CHCl ₃	Cloroformo.
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano.
CH ₃ COOH	Ácido acético.
Cl ₅₀	Concentración inhibitoria 50.
CPP	Cromatografía en placa preparativa.
d	Doblete.
dd	Doblete de doblete.
DEPT	Distortion less Enhancement by Polarization Transfer.
DMSO	Dimetilsulfóxido.
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado.
EtOH	Etanol.
g	Gramo (s).
h	Hora (s).
H ₂ O	Agua.
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico.
Hex.	Hexano.

Hz	Hertz.
<i>J</i>	Constante de acoplamiento spin-spin (Hz).
μL	Microlitro
μM	Micromolar
m	Multiplete.
MeOD	Metanol deuterado.
MeOH	Metanol.
mg	Miligramo.
MHz	Mega hertz.
Mult.	Multiplicidad.
p.a.	Para análisis.
ppm	Partes por millón.
R _f	Factor de retención.
RMN	Resonancia Magnética Nuclear.
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de protones.
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono.
s	Singlete.
sa	Singlete ancho.
t	Triplete.
UV	Ultravioleta.

2 INTRODUCCIÓN

Los organismos vivos se formaron y evolucionaron a lo largo de cientos de millones de años experimentando una serie de reacciones químicas esenciales para la vida. Estas reacciones tuvieron lugar gracias a la acción de una variedad de macromoléculas, destacándose principalmente enzimas, proteínas y ácidos nucleicos, cuya función es lograr mantener el control de dichas reacciones, por lo que son, de modo directo o indirecto, responsables de la síntesis y el transporte de cualquier compuesto químico requerido para la supervivencia de los organismos vivos. ^[1] Estas reacciones mencionadas anteriormente se conocen como metabolismo primario y los compuestos implicados en las diferentes rutas metabólicas se conocen como metabolitos primarios.

Por otra parte, se denomina metabolismo secundario, al conjunto de reacciones en el que participan compuestos con una distribución mucho más limitada y específica según el organismo vivo. Estos compuestos que participan en este tipo de metabolismo, se denominan metabolitos secundarios, y son específicos para cada especie. A partir de ahora estos son los que se definirán como productos naturales. ^[2]

Los productos naturales son sustancias químicas producidas por animales, vegetales y microorganismos, los cuales no son esenciales para su supervivencia, pero cumplen funciones complementarias a las vitales. El interés de los productos naturales como fuente de nuevos medicamentos se debe a la inmensa diversidad de la naturaleza y a los amplios antecedentes de su uso para tratar enfermedades desde los comienzos mismos de la medicina. Además, en su estado habitual o modificado químicamente, pueden ser adaptados para actuar en un sin número de situaciones biológicas. ^[3]

Esto ha impulsado el estudio de las plantas medicinales a fin de conocer la química intrínseca que existe en la planta, con la finalidad de obtener nuevos productos

terapéuticos que luego de ser sujetos a pruebas clínicas que demuestren su efectividad, puedan incorporarse al mercado farmacéutico como medicamentos patentados. [4]

Desde mediados del siglo XX, la fitoquímica ha sido una herramienta muy importante para la obtención de extractos herbolarios, usados como medicamentos. [4] Por lo tanto el desarrollo de la Fitoquímica como una disciplina científica, permitió el estudio de los metabolitos secundarios de origen vegetal, animal y microorganismos a través de la extracción y purificación para posteriormente elucidar su estructura y evaluar su posible actividad biológica.

Dentro de los metabolitos secundarios que se estudian en el campo de la fitoquímica se pueden encontrar: los alcaloides, los terpenos y compuestos aromáticos tales como, flavonoides, derivados fenólicos y taninos, entre otros.

La familia Leguminosae ha sido de gran interés en estudios fitoquímicos por su gran variedad de especies y géneros; estos estudios se han enfocado en el aislamiento, purificación, elucidación y evaluación de actividades biológicas de metabolitos secundarios, dentro de los cuales se encuentran los flavonoides, estos sin ser metabolitos primarios, se encuentran casi en cualquier vegetal superior. La función de los flavonoides en la planta son varias, se consideran como antioxidantes y sequestrantes de radicales libres, agentes antimicrobiales y antinutricionales, fotoreceptores y protectores contra la luz UV, atractores visuales para insectos, entre otros. La estructura general de los flavonoides comprende un anillo A derivado de la cadena del policétido, un anillo B, derivado del ácido shikímico, con sustitución en *orto*, como en los ácidos cumárico, cafeico y gálico, y tres átomos de carbono que unen al anillo A y B, correspondientes a la parte alquílica del fenilpropanoide. Es por esto que se les conoce como unidades C₁₅ (C₆-C₃-C₆) y el esqueleto recibe el nombre de núcleo de flavano. [5]

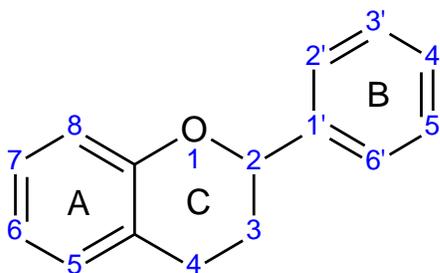
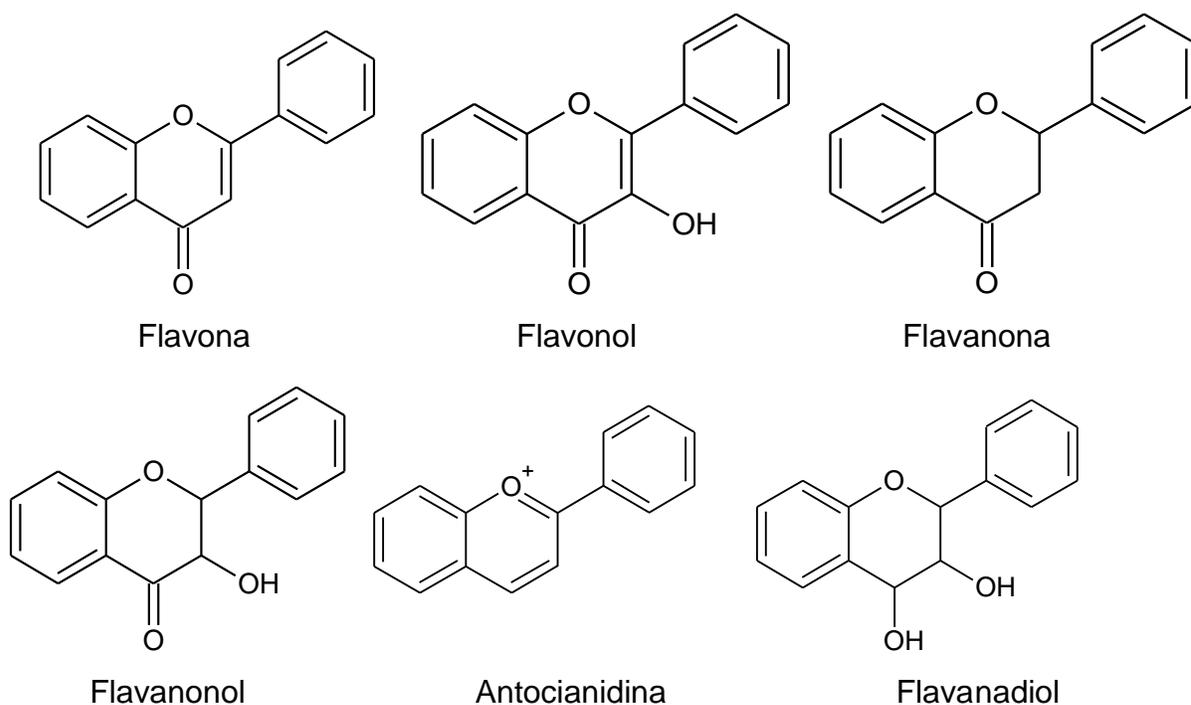
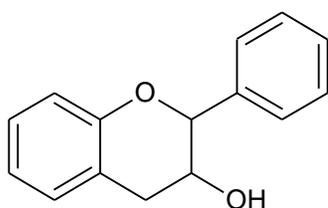


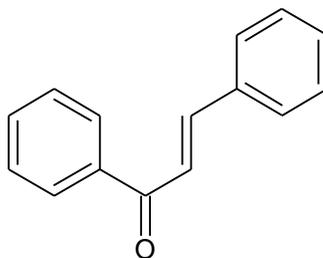
Figura 1 Estructura básica de un Flavonoide.

Estos pueden contener un anillo central heterocíclico que son las más abundantes, o una cadena abierta como las chalconas, como precursores de las anteriores. La proporción de oxígeno varía y puede estar como hidroxilo, metoxi o dioximetileno y aun formando glicósidos. El estado de oxidación del anillo central determina varios grupos estructurales como: flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanoles, antocianidinas, catequinas, chalconas, auronas, flavanodiolos e isoflavonas. [5]

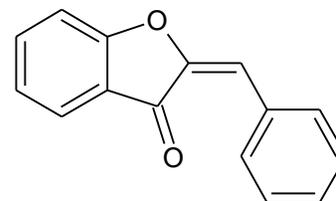




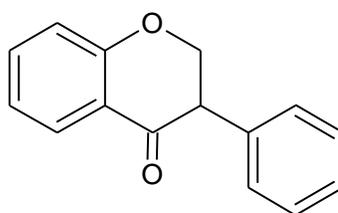
Catequina



Chalcona



Auronas



Isoflavona

Los representantes más abundantes de los flavonoides naturales son las flavonas y flavonoles y se han aislado tanto libres como formando glicósidos. El termino glicósidos se refiere a la unión de uno o varios sacáridos al esqueleto del flavonoide. Este grupo de flavonoides están distribuidos en todos los órganos de las plantas de una gran variedad de géneros y familias. Las agliconas, especialmente cuando son altamente oxigenadas, se localizan en la parte más externa del vegetal. Los compuestos más frecuentes de estos grupos son: apigenina, luteolina y sus glicósidos, quercitina, rutina, kaempferol y sus glicósidos. ^[5]

Las flavanonas de origen natural presentan casi siempre la configuración 2S, que dispone al anillo B ecuatorial. Esta estereoquímica está asociada a las propiedades levorrotatorias de tales moléculas. Las flavanonas pueden presentarse como O- y C-glicósidos y también pueden tener O- y C- metilaciones o alquilaciones superiores. Las agliconas más representativas son hesperidina y nangerina. ^[5]

También dentro de esta familia Leguminosae se han logrado aislar metabolitos del tipo terpenoidal, los cuales son hidrocarburos complejos de fórmula general C_nH_{2n-4} , de la serie del isopreno, constituyen uno de los grupos más amplios de fitonutrientes y actúan como antioxidantes protegiendo los lípidos, la sangre y demás fluidos corporales del ataque de radicales libres de especies oxigenadas. De manera general, los terpenos obedecen a lo que se conoce como *regla del isopreno*, es decir, la secuencia de los átomos que conforman un terpeno es tal que pueden localizarse varias unidades consecutivas de isopreno. Sin embargo, esto no es siempre cierto por cuanto el número de átomos de carbono puede no ser un múltiplo de cinco, pues son frecuentes las reacciones de degradación, o bien suceden rearrreglos moleculares que conducen a secuencias anormales de la unidad de C_5 . El descubrimiento de un gran número de compuestos que presentan diferentes grupos funcionales ha generado el uso del término "*terpenoide*" para designarlos en lugar de "*terpeno*" cuya terminación (-eno) denota más bien hidrocarburos. [6]

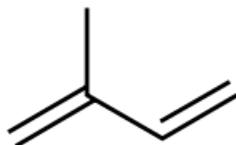


Figura 2 Estructura del Isopreno

Los Terpenos se pueden clasificar según el número de unidades de isopreno que lo conforman, los monoterpenos contienen un total de 10 átomos de carbonos que provienen de unión de dos unidades de isopreno, los sesquiterpenos su esqueleto contienen 15 átomos de carbono, los diterpenos cuyo esqueleto contienen 20 átomos de carbonos provienen de unión de cuatro unidades de isopreno, sesterpenos cuyo esqueleto contiene 25 átomos de carbonos y triterpenos conformado por 30 átomos de carbono que provienen de unión de seis unidades de isopreno, estos últimos poseen una numerosa cantidad de componentes, que se encuentran en la naturaleza tanto en

forma libre como asociados con azúcares o aminoácidos, se clasifican generalmente en tetraciclicos y pentaciclicos.^[6] Por ejemplo Lupeol, lupenona, estigmasterol, β -sitosterol, Friedelina, Taraxerol entre otros.

Del género *Tachigali* perteneciente a la familia Leguminosae, se reportan unas 74 especies aproximadamente, con 65 especies endémicas de Suramérica,^[7] además, algunas de estas especies son utilizadas por sus diferentes propiedades medicinales como: antiinflamatoria, tratamiento contra la disentería, emoliente y para el tratamiento de la parasitosis intestinal.^[8]

Existen pocos trabajos fitoquímicos sobre el género *Tachigali* por lo que, en el Laboratorio de Productos Naturales de la Esc. de Química de la UCV, se planteó el estudio de tres de sus especies, *T. paniculata*, *T. crysophylla* y la especie objeto de este estudio, *T. Cavipes*, con la finalidad de aislar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en estas especies y realizar una comparación quimio taxonómica.

3 ANTECEDENTES

3.1 LA FAMILIA LEGUMINOSAE

La familia Leguminose o Fabaceae es una de las mayores familias de angiospermas, con cerca de 700 géneros y 18000 especies, distribuidas por todo el mundo, aunque son más frecuentes en las regiones tropicales y subtropicales. ^[9] Son la familia más representada en los bosques tropicales lluviosos y en los bosques secos de América y África. Reúne árboles, arbustos o hierbas anuales o perennes, inermes o espinosos. Sus hojas son alternas, pinnadas o bipinnadas, con uno a numerosos pares de folíolos, en algunos casos reducidos o ausentes; algunas especies con glándulas peciolares o bien raqueales. ^[10]

Las leguminosas presentan una destacada importancia económica y cultural debido a su extraordinaria diversidad y abundancia de representantes en diversas formaciones vegetales y por sus aplicaciones en jardinería y ornamentación, alimento y obtención de compuestos con interés medicinal. ^[11] Dentro de las alimenticias se encuentran *Lens culinarias* conocida como lentejas, también *Cicer arietinum* conocida como garbanzo y *Arachis hypogaea* o maní, entre otras. Dentro de sus usos industriales se encuentra producción de gomas de la especie *Acacia senegal* de donde se obtiene la goma arábica. ^[12] Dentro de los usos ornamentales se encuentra el *Peltophorum pterocarpum* conocida como la Acacia de San Francisco originaria del Sur de la India, Malaya y el Norte de Australia, e introducida a los países tropicales de América. ^[13]

Debido a la escasa información etnobotánica y fitoquímica sobre el género *Tachigali*, se presentarán a continuación diversos estudios fitoquímicos realizados a diferentes especies pertenecientes a la familia Leguminosae.

3.2 GENERO *DALBERGIA*

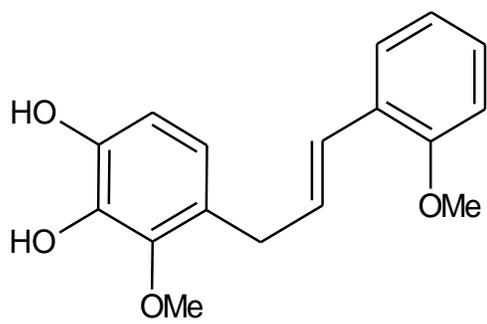
Es un género de pequeños y medianos árboles, arbustos y lianas, que posee alrededor de 100 especies y está ampliamente distribuido en el sur de Asia Central, América del Sur, África y Madagascar. ^[14] Son conocidos por que el corazón de su corteza o duramen está profundamente pigmentado de diferentes colores. A menudo son valorados por su uso en la artesanía de madera, pero también se utilizan en la medicina tradicional y tienen actividades antibióticas y citotóxicas. ^[15]

Estudios fitoquímicos realizados al género *Dalbergia* han demostrado que se encuentran metabolitos secundarios del tipo fenólicos como isoflavonoides monoméricos, neoflavonoides y cinnamifenoles. ^[16] También se ha demostrado que las especies de este género poseen diversas actividades farmacológicas, incluyendo analgésicos, anti-inflamatorio, antimicrobianos, antidiarreico, anti-ulcerogénico, larvicida y repelente de mosquitos, antioxidante y actividad antitumoral. ^[17]

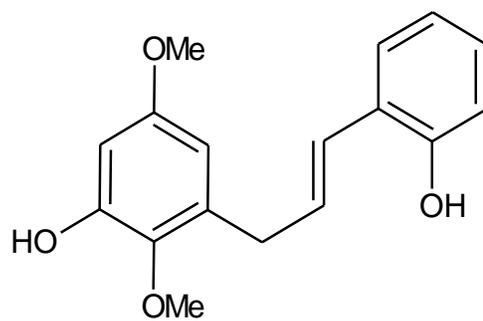
3.2.1 *Dalbergia candenatensis*

Es una planta del tipo trepadora y está ampliamente distribuida en la zona de los manglares, es conocida localmente como “Sakkhee”. El duramen de esta especie presenta un color rojo intenso y se utiliza en Tailandia como un colorante.

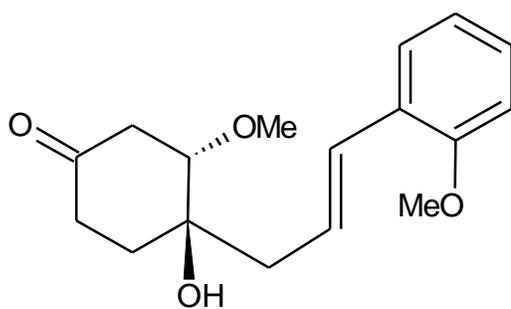
Mediante una extracción con acetona del duramen de esta especie, se logró aislar cinco nuevos compuestos del tipo fenólicos: Candenatenina G-K **(1-5)** junto con los compuestos: Dinklagina A **(6)**, stipulina **(7)** (*R*)-4-metoxidalbergiona **(8)** y melilotocarpano A **(9)**. ^[18]



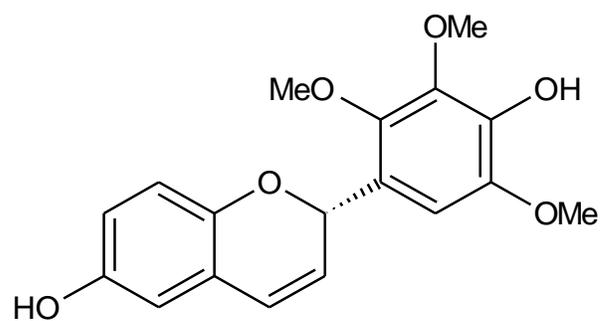
(1)



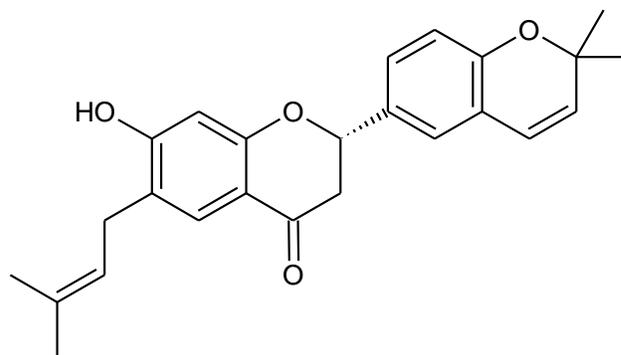
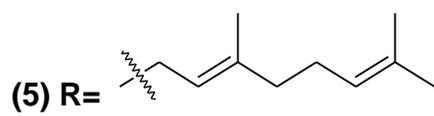
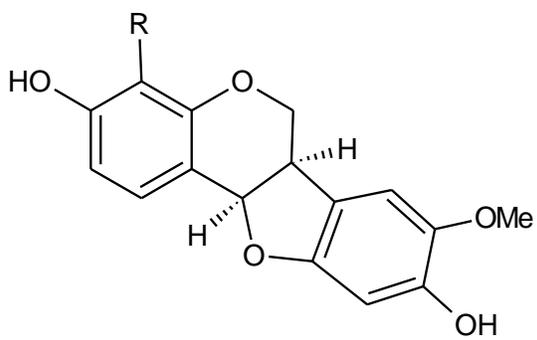
(2)



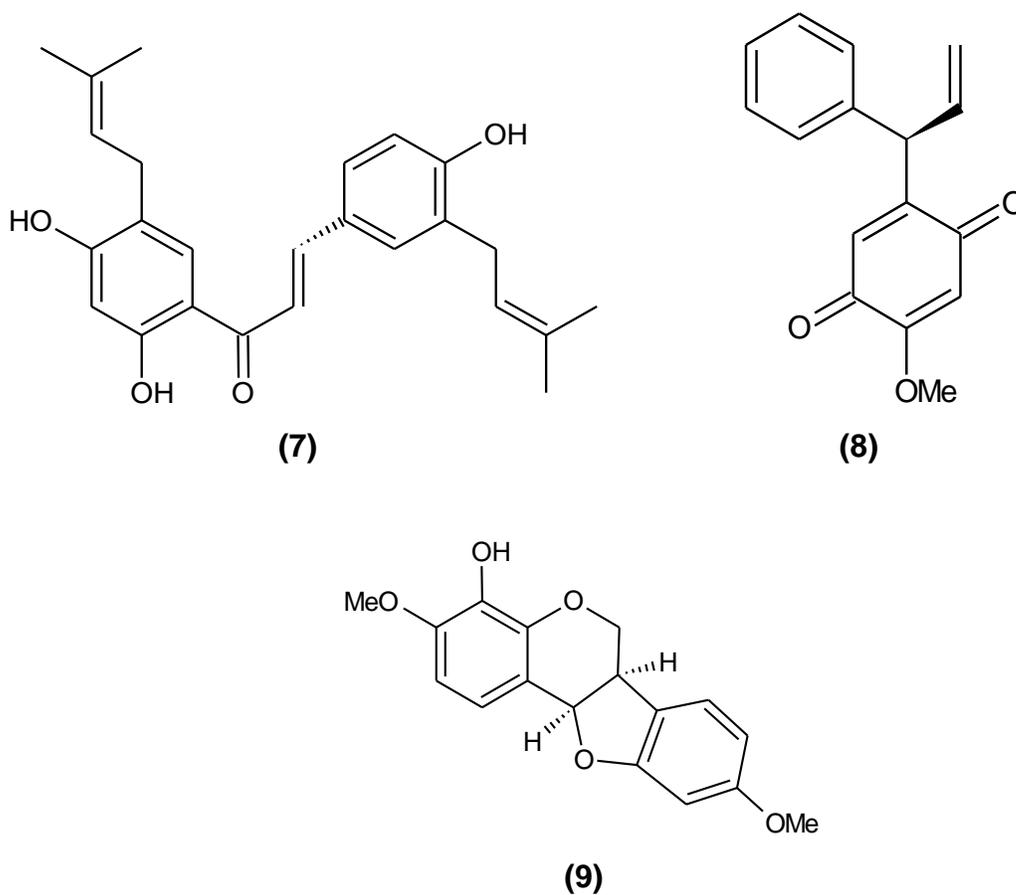
(3)



(4)



(6)

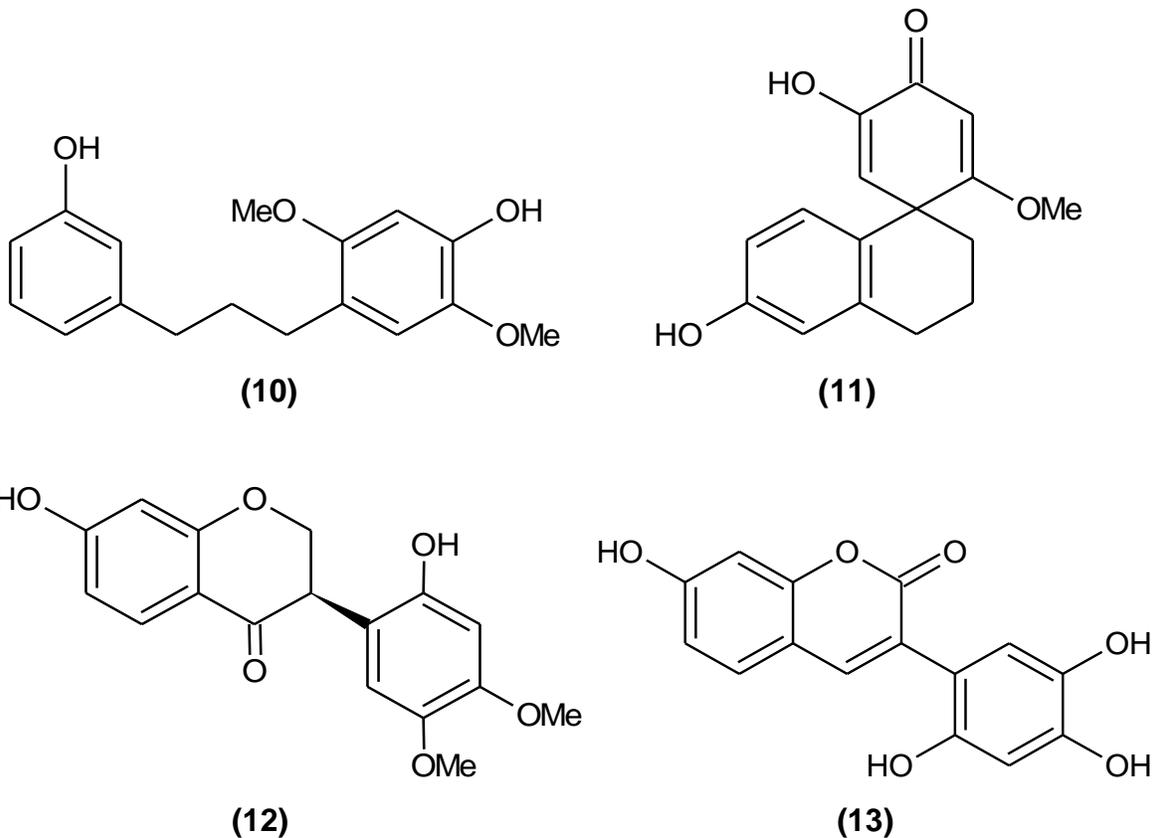


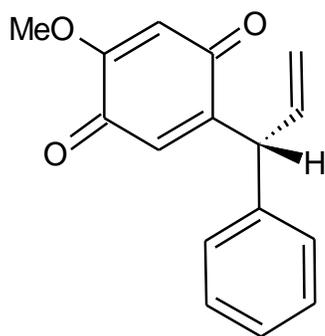
Se evaluó la actividad citotóxica contra la línea celular de cáncer NCI-H187 donde el compuesto **(2)** presentó un CI_{50} de $14,8\mu M$, mientras que el compuesto **(5)** presentó una potente actividad contra radicales DPPH con un CI_{50} de $27,7\mu M$. ^[18]

3.2.2 *Dalbergia louvelii*

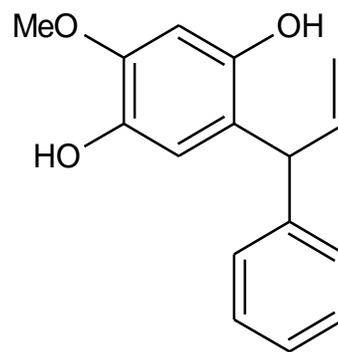
Es una especie típica de Madagascar y es utilizada tradicionalmente para el tratamiento de esquistosomiasis y malaria. Su duramen es de un color magenta o púrpura rojizo, a veces presenta rayas oscuras de color negro-violeta. Con el tiempo su color tiende a oscurecerse a morado oscuro casi negro.

En un estudio fitoquímico del duramen de esta especie, se lograron aislar cuatro nuevos metabolitos: 1-(3-Hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-2,5-dimetoxifenil)propano **(10)**, espirolouvelina **(11)**, (3*R*)-7,2'-Dihidroxi-4',5'-dimetoxiisoflavanona **(12)** y 3-(2,4-Dihidroxi-5-metoxi)fenil-7-hidroxicumarina **(13)** junto con (*R*)-4''-metoxidalbergiona **(14)**, obtusaquinol **(15)**, 9-hidroxi-6,7-dimetoxidalbergiquinol **(16)**, parvifurano **(17)**, obtusafurano **(18)**, 7,4'-dihidroxi-3'-metoxiisoflavona **(19)**, odoratina **(20)** e isoliquiritigenina **(21)**.^[19]

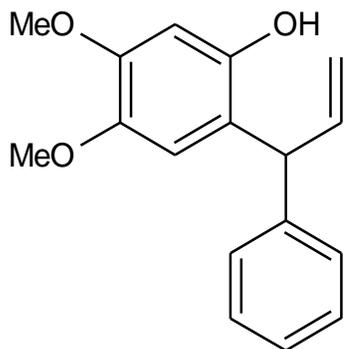




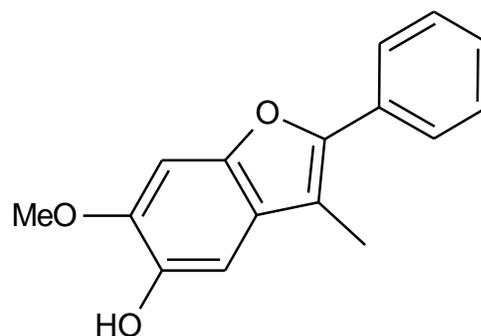
(14)



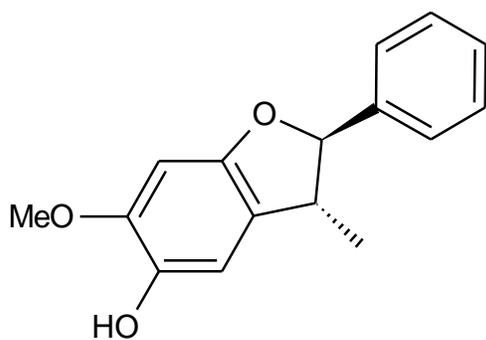
(15)



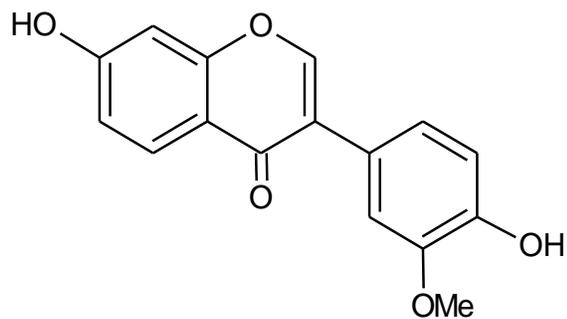
(16)



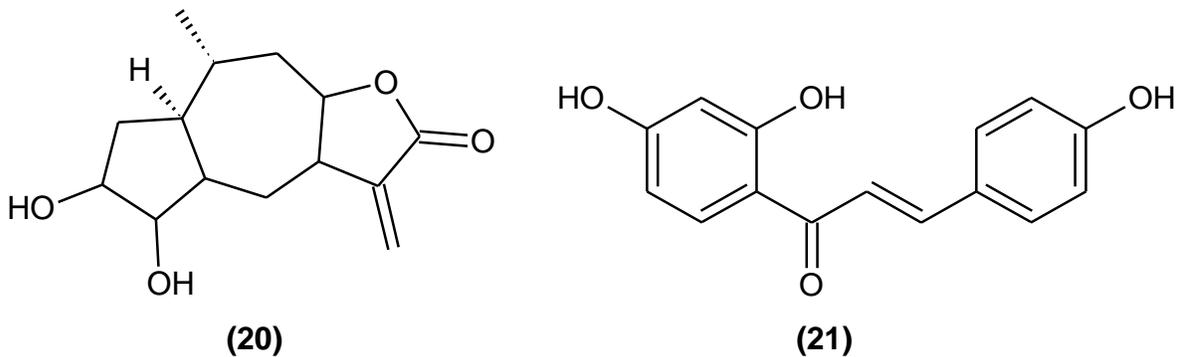
(17)



(18)



(19)



Los compuestos **(14)**, **(15)**, **(19)**, **(21)** mostraron actividad anti-plasmodial con un Cl_{50} entre 5,8 y 8,7 μ M. ^[19]

3.2.3 *Dalbergia odorifera*

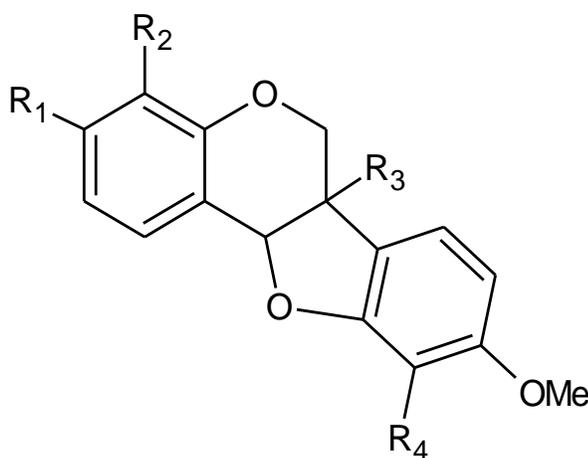
Es originaria de Hainan, Guangdong y Guangxi, provincias de China, y crece en el borde de bosques densos. El duramen de esta especie es uno de los importantes medicamentos tradicionales en China. Se ha utilizado en la medicina tradicional para tratar enfermedades de la sangre, la isquemia, inflamación, necrosis y dolores reumáticos. ^[20]

Resultados de los estudios fitoquímicos realizados a esta especie demostraron que contiene principalmente flavonoides y volátiles, que mostraron actividad como antiinflamatorios, antioxidantes, antimicrobianos y antiplaquetarios.

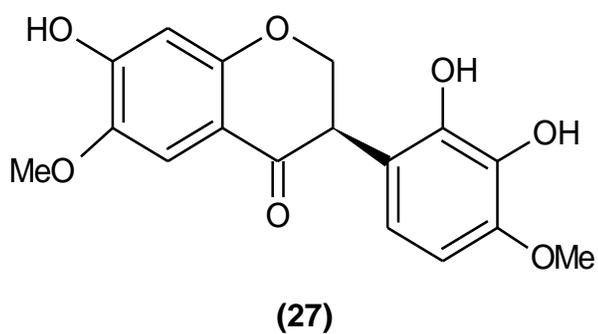
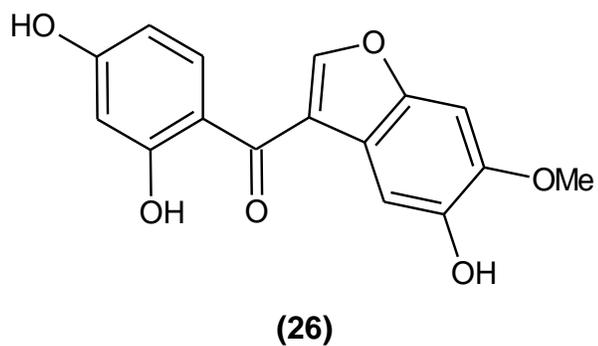
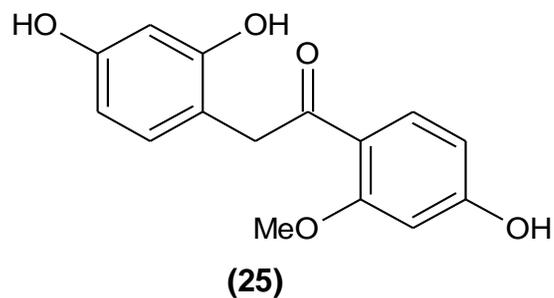
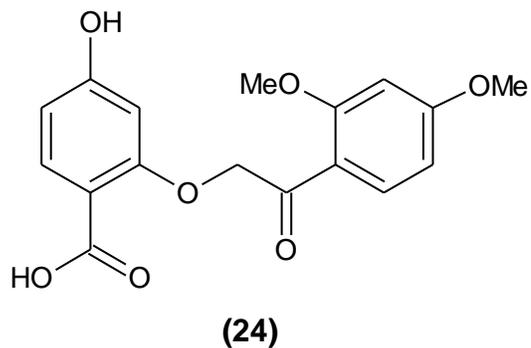
Del extracto etanólico del duramen se lograron aislar seis nuevos compuestos fenólicos: (6a*R*,11a*R*)-6a,3,9-trimetoxipterocarpano **(22)**, (6a*R*,11a*R*)-6a,9-Dimetoxi-3-hidroxipterocarpano **(23)**, ácido 2-(2-(2,4-Dimetoxifenil)-2-oxoetoxi)-4-hidrobenzoico **(24)**, 2-(2,4-Dihidroxifenil)-1-(4-hidroxi-2-metoxifenil) etanona **(25)**, 6-Metoxi-5,2',4'-trihidroxi-3-benzoylbenzofurano **(26)**, (3*R*)-7,3'-Dihidroxi-6,2',4'-trimetoxi-isoflavanona **(27)**, junto con cinco compuestos fenólicos conocidos: (6a*R*,11a*R*)-variabina **(28)**,

melilotocarpano D **(29)**, melilotocarpano A **(30)**, vesticarpano **(31)**, 3-metoxi-9-hidroxipterocarpano **(32)**.^[21]

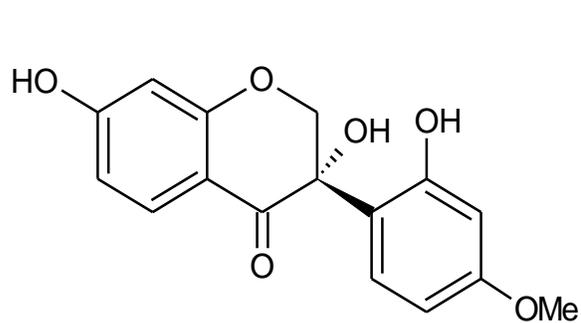
Por otro lado, el compuesto **(22)** mostró actividad citotóxica contra líneas celulares SGC-7901 y BEL-7402, mientras que los compuestos **(25)**, **(26)** y **(32)** mostraron actividad antibacteriana contra *Ralstonia solanacearum*.^[21]



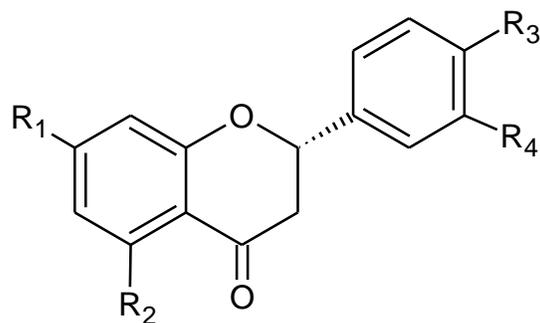
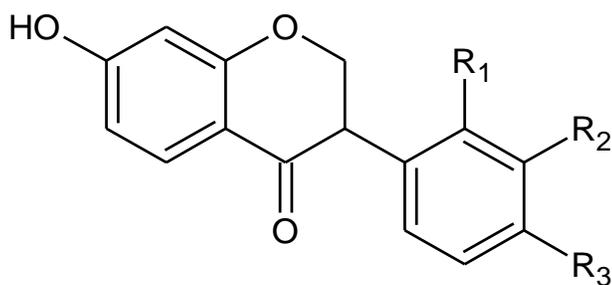
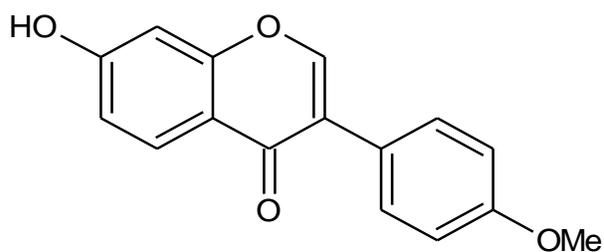
	R1	R2	R3	R4
(22)	OMe	H	OMe	H
(23)	OH	H	OMe	H
(28)	OMe	H	OH	H
(29)	OMe	OH	H	OH
(30)	OMe	H	H	OH
(31)	OH	H	H	OH
(32)	OH	H	H	H



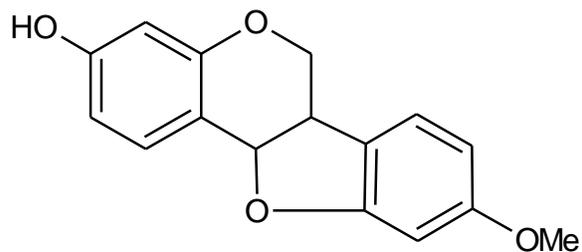
En otro estudio fitoquímico, se logró separar por HPLC del extracto metanólico del duramen, los ocho flavonoides mayoritarios presentes en esta especie: (3*R*)-4'-metoxi-2',3,7-trihidroxiisoflavanona (**33**), liquiritigenina (**34**), violanona (**35**), vistitona (**36**), formononetina (**37**), sativanona (**38**), medicarpina (**39**) y Butina (**40**).^[22]



(33)

(34) $R_1=R_2=R_4=OH, R_3=H$ (40) $R_1=R_4=OH, R_2=R_3=H$ (35) $R_1=R_3=OMe, R_2=OH$ (36) $R_1=OH, R_2=H, R_3=OMe$ (38) $R_1=R_3=OMe, R_2=H$ 

(37)

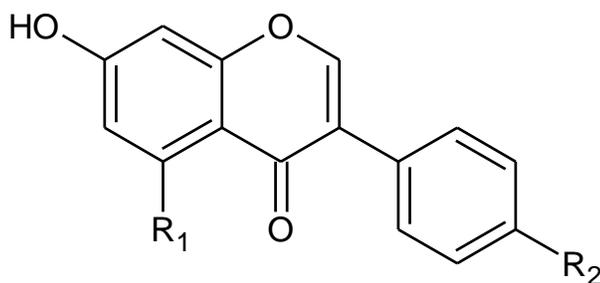
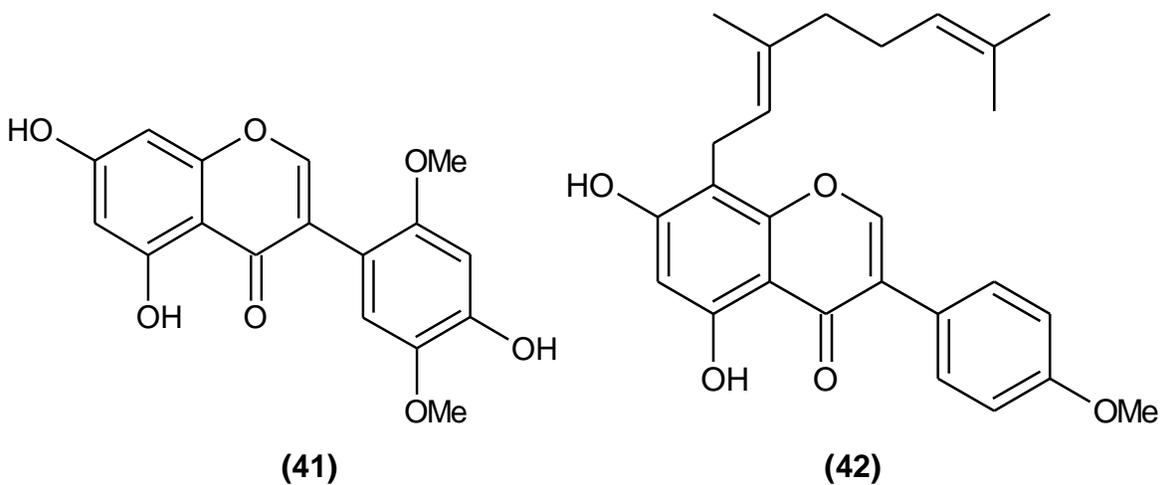


(39)

3.2.4 *Dalbergia olivari*

Es un árbol que crece alrededor de 30 metros de altura. Su fruto es una vaina verde que contiene de uno a dos semillas que se vuelven de color marrón a negro cuando está maduro. Esta especie se distribuye en Myanmar, Tailandia, Laos, Camboya y Vietnam.

Del extracto etanólico de la corteza del tallo se lograron aislar dos nuevos isoflavonoides: olibergina A **(41)** y olibergina B **(42)** junto con tres compuestos conocidos formononetina **(37)**, biochanina A **(43)**, y genisteína **(44)**.^[23]



(43) $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{OMe}$

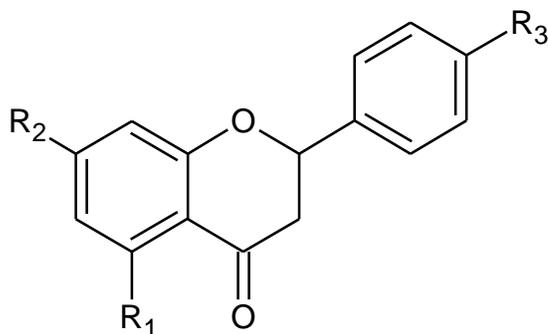
(44) $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{OH}$

En otro estudio fitoquímico del extracto de diclorometano del duramen de esta especie, se lograron aislar tres isoflavonoides: (+)-medicarpina (**39**), formononetina (**37**) y (\pm)-violanona (**35**), los cuales presentaron actividad larvicida sobre *Aedes aegypti* que es el principal causante de la transmisión de dengue y dengue hemorrágico; el compuesto (**39**) fue el que presentó mayor actividad con un CI_{50} de 296,72ppm. ^[24]

3.2.5 *Dalbergia parviflora*

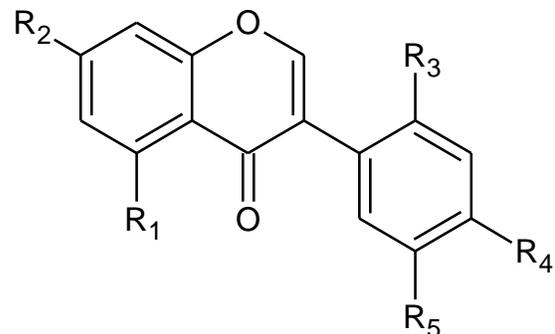
Es una liana gigante que desarrolla un duramen de color rojo oscuro. Es conocida en Tailandia como “Sak Kee”, se usa en la medicina tradicional tailandesa como expectorante estomacal, cardiotónico. La madera de esta planta se ha usado como incienso. El aceite de esta especie se ha usado para curar heridas crónicas y como antipirético. ^[25]

Mediante una extracción con acetato de etilo de los tallos de esta especie, se lograron aislar los siguientes compuestos: pinocembrina (**45**), mucronulatón (**46**), duartina (**47**), sativanona (**48**), naringenina (**49**), formononetina (**42**), liquiritigenina (**34**), violanona (**35**) y biochanina A (**50**), junto con una nueva isoflavona: dalparvona (**51**) y dalparvinena (**52**).



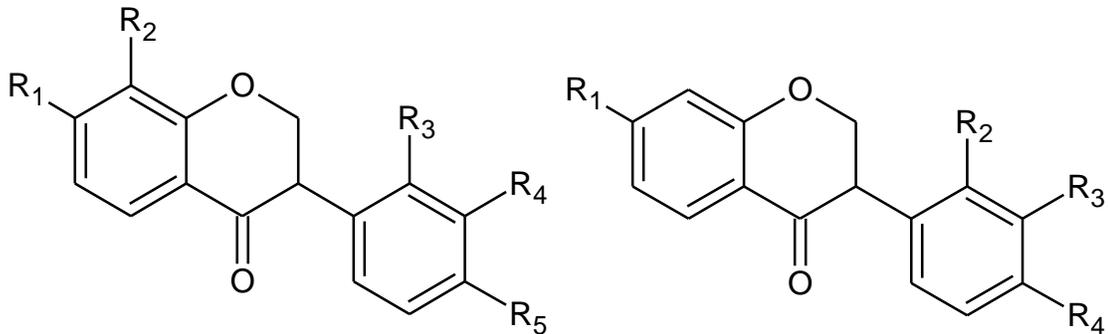
(45) $R_1=R_2=OH$, $R_3=H$

(50) $R_2=R_3=OH$, $R_1=H$



(46) $R_1=R_2=OH$, $R_3=R_4=OMe$, $R_5=OH$

(52) $R_1=R_2=OH$, $R_3=R_5=H$, $R_4=OMe$

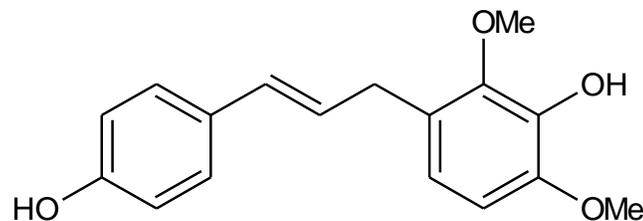


(47) $R_1=R_4=OH$, $R_2=H$, $R_3=R_5=H$

(49) $R_1=OH$, $R_2=R_4=OMe$, $R_3=H$

(48) $R_1=R_4=OH$, $R_2=R_3=R_5=OMe$

(51) $R_2=R_4=OMe$, $R_1=R_3=OH$,

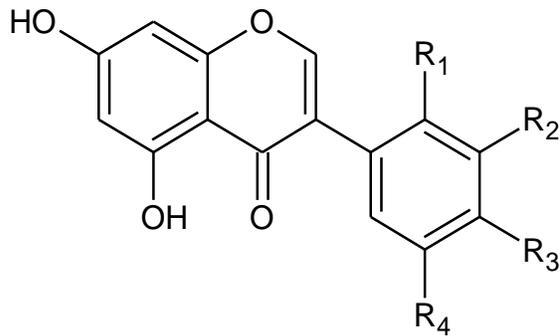
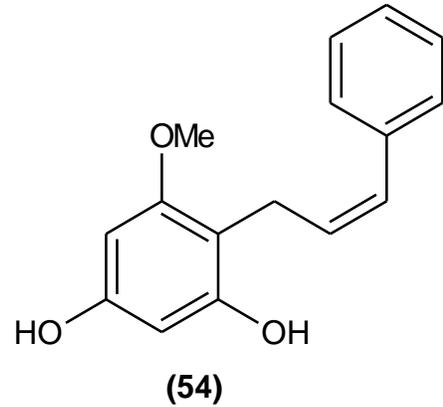
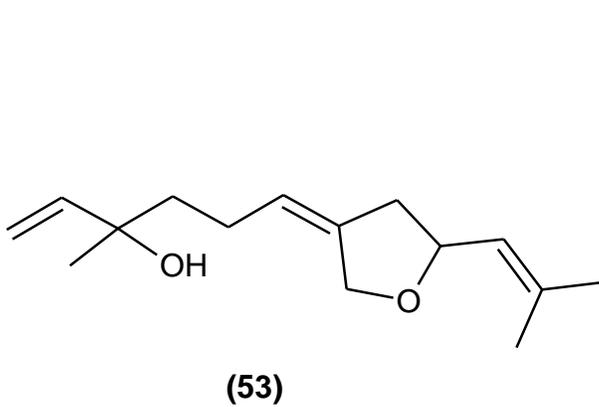


(52)

La isoflavona **(47)**, mostro una potente actividad citotóxica contra KB y contra líneas celulares NCI-H187 con valores de Cl_{50} de (0,53 y 2.04) μ g/mL respectivamente. También el compuesto **(52)** mostró una fuerte actividad citotóxica contra líneas celulares NCI-H187 con un Cl_{50} de 1,46 μ g/ml, mientras que los compuestos **(48)** y **(52)** mostraron actividad citotóxica moderada contra líneas celulares KB con valores de Cl_{50} de (6,78 y 9,89) μ g/mL respectivamente. Además, el compuesto **(50)** mostró actividad anti-plasmodial moderada con un Cl_{50} de 8,19 μ g/mL. [26]

En otro estudio fitoquímico realizado a los tallos de esta especie, se lograron aislar tres nuevos compuestos: dalberpena **(53)**, dalparvinena B **(54)** y dalparvona B **(55)** junto con: isomucronustirena **(56)**, xenognosin A **(57)**, 3,5,7-trihidroxi-flavonol **(58)**, 4-hidroxi-3-metoxi-8,9-metilenedioxipterocarpano **(59)**, 3-hidroxi-2,4-dimetoxibenzaldehído **(60)**, 3'-

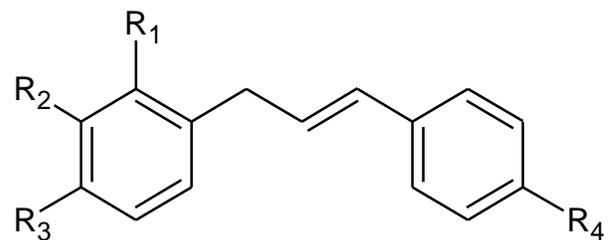
O-metilviolanona (**61**), 5-hidroxiBowdichiona (**62**), eridictiol (**63**), 5,7,3',4'-Tetrahidroxiisoflavona (**64**), secundiflorol H (**65**), 3,8-dihidroxi-9-metoxipterocarpano (**66**) y 2'-hidroxiBiochanina A (**67**). [27]



(55) R₁=OMe R₂=H, R₃=R₄=OH

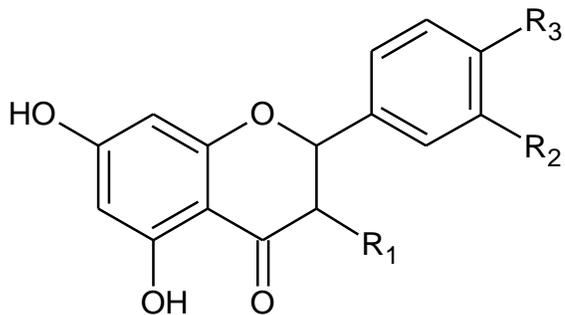
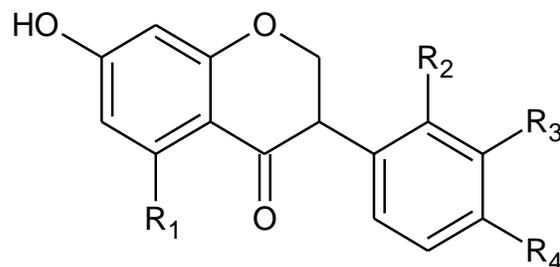
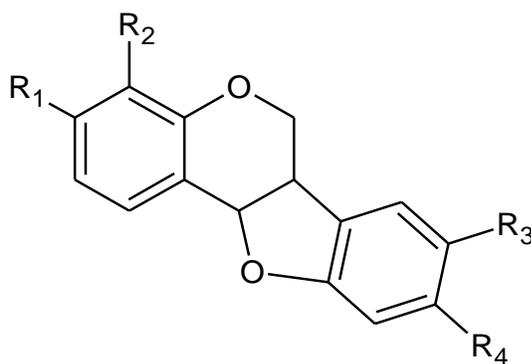
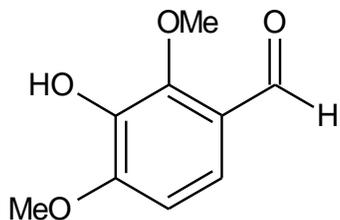
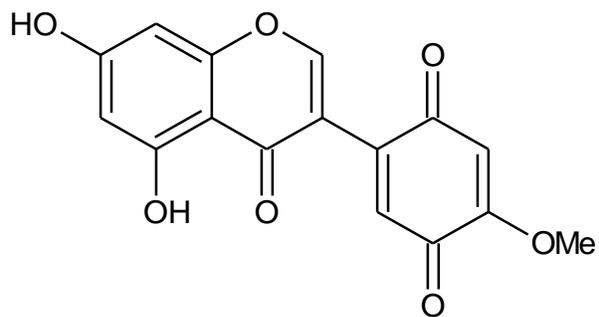
(64) R₁=R₄=H, R₂=R₃=OH

(67) R₁=OH, R₂=R₄=H, R₃=Ome



(56) R₁=R₃=OMe, R₂=OH, R₄=H

(57) R₁=OMe R₂=H, R₄= R₃=OH

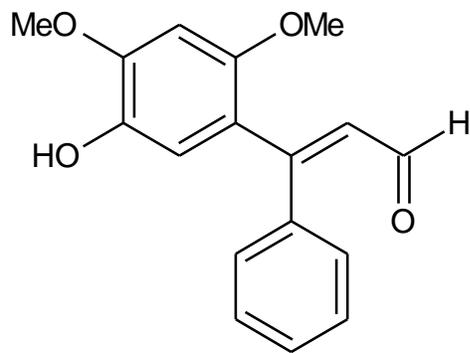
**(58)** $R_1 = \text{OH}$ $R_2 = R_3 = \text{H}$ **(63)** $R_1 = \text{H}$, $R_2 = R_3 = \text{OH}$ **(61)** $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = R_4 = \text{OMe}$, $R_3 = \text{H}$ **(65)** $R_2 = R_4 = \text{OMe}$, $R_1 = R_3 = \text{OH}$ **(59)** $R_1 = \text{OMe}$, $R_2 = \text{OH}$, R_4 y $R_3 = \text{OCH}_2\text{O}$ **(66)** $R_1 = R_3 = \text{OH}$ $R_2 = \text{H}$, $R_4 = \text{OMe}$ **(60)****(62)**

La isoflavona **(65)** presentó una potente actividad citotóxica contra líneas celulares KB, MCF-7 y NCI-H187 con rangos de valores de Cl_{50} entre 3,5 $\mu\text{g/mL}$ y 5,4 $\mu\text{g/mL}$ y estas fueron inactivas contra células normales. ^[27]

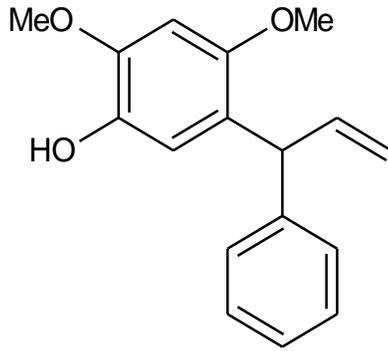
3.2.6 *Dalbergia sisso*

Es un árbol grande perenne, crece ampliamente en toda India, Pakistán, Afganistán, Bangladesh y Nepal. Se utiliza en la medicina popular para el tratamiento de la gonorrea. La corteza de esta especie posee actividad antiinflamatoria, antiulcerogénica y antioxidante, mientras que a las hojas de esta planta se le atribuyen actividades antipiréticas, analgésicas, antimicrobianas y propiedades osteogénicas, para el tratamiento de la inflamación y diabetes.

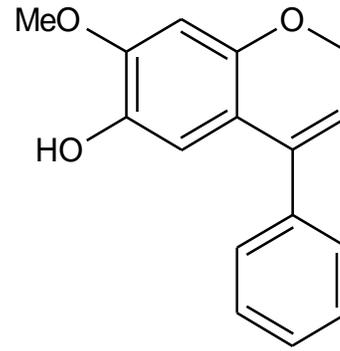
De un estudio fitoquímico del duramen de esta especie, se lograron aislar los siguientes compuestos: dalsissoal **(68)**, cearoin **(69)**, dalbergifenol **(69)**, dalbergicromona **(70)**, metil dalbergina **(71)** y latinona **(72)**. ^[28]



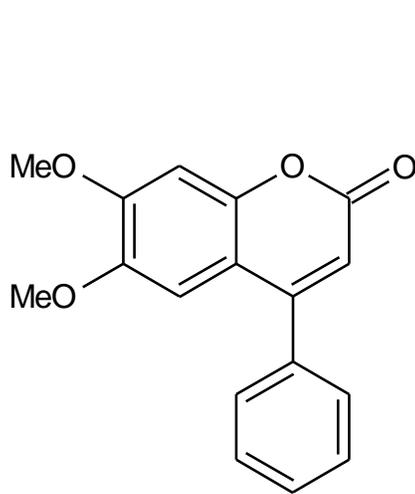
(68)



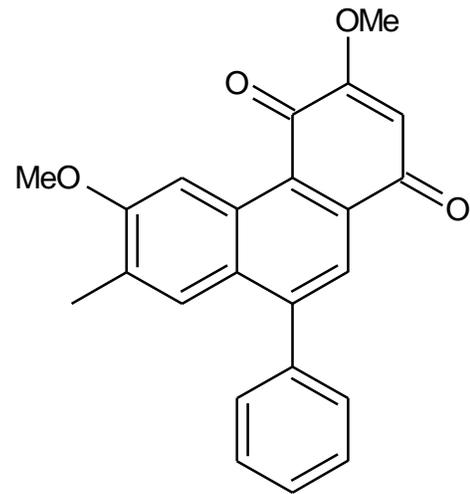
(69)



(70)

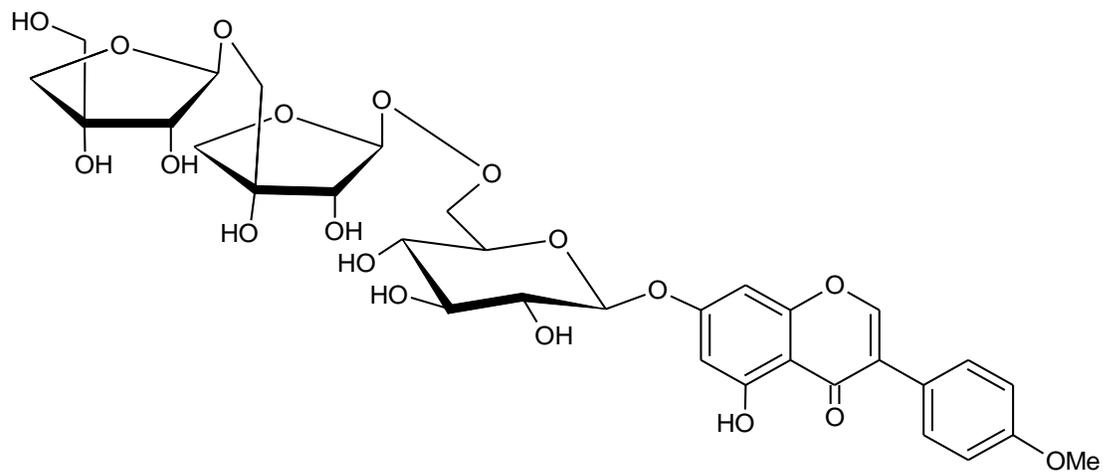


(71)

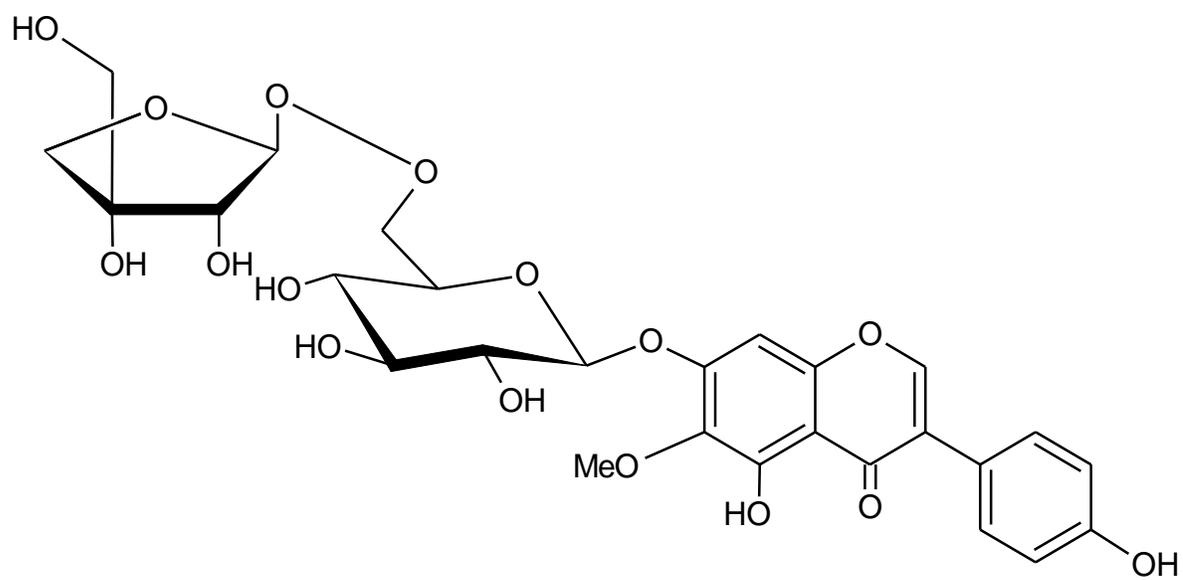


(72)

En otro estudio fitoquímico realizado a las hojas de esta especie se lograron aislar del extracto metanólico, los siguientes flavonoides glicosilados: biochanina A 7-O-[β -D-apiofuranosil-(1 \rightarrow 5)- β -D-apiofuranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosido] (**73**) y tectorigenina 7-O-[β -D-apiofuranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosido] (**74**).^[28]



(73)



(74)

3.3 GENERO *TACHIGALI*

El género fue descrito por Aublet, quien reconoció dos especies, *T. paniculata* Aubl. y *T. trigona* Aubl., ambas de la Guayana Francesa.^[30] Este género comprende unas 74 especies^[29] que van desde arboles pequeños hasta arboles grandes.



Figura 3 Especie *Tachigali densiflora*.

Presenta flores de coloración amarillas y raramente presentan una coloración blanca. Las flores son casi indispensables para la identificación de las especies de este género, debido a las formas que estas presentan.



Figura 4 Flores típicas para las especies del género *Tachigali*. En este caso la especie *Tachigali subvelutina*.

El género *Tachigali* se distribuye desde Costa Rica hasta el sur de Paraguay y Brasil.

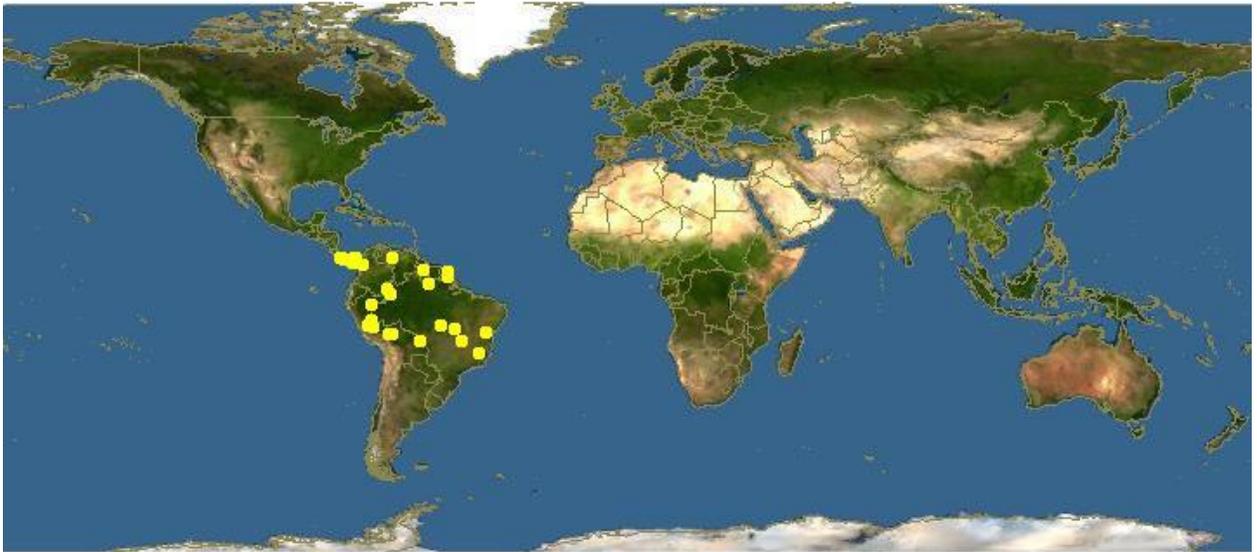
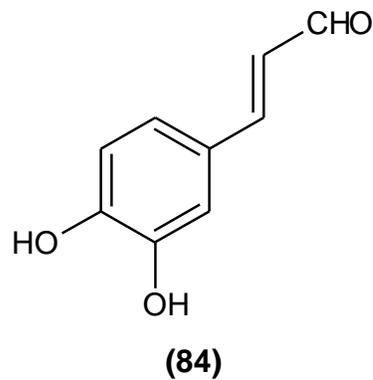
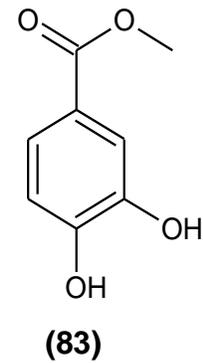
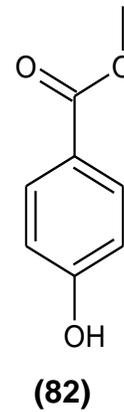
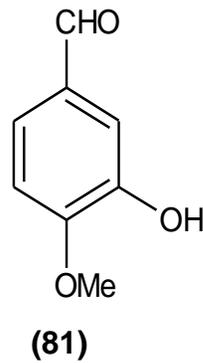
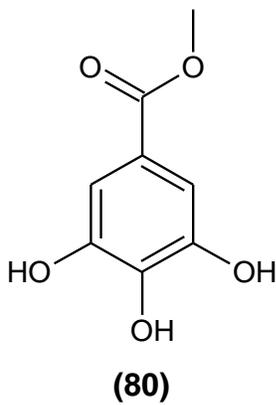
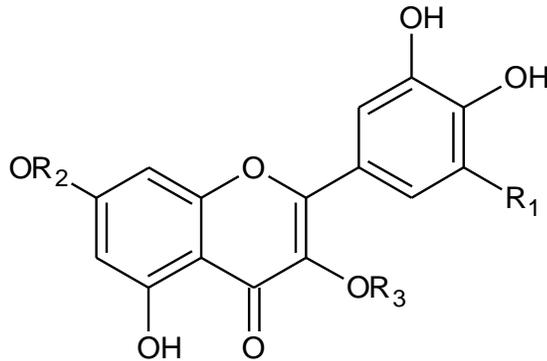


Figura 5 Distribución geográfica del genero *Tachigali*. [29]

3.3.1 *Tachigali paniculata*

Cioffi G. y col., realizaron un estudio fitoquímico a las hojas de esta especie logrando aislar dos flavonoides del extracto con éter de petróleo, los cuales fueron identificados como: Miricetina 7-O-D-glucopiranosil-(1→6)-D-glucopiranosido (**75**), Miricetina 7-O-L-ramnopiranosil-(1→6)- α -D-glucopiranosido (**76**), mientras que del extracto metanólico se lograron aislar: quercetina 3-O-D-glucopiranosido (**77**), quercetina 3-O-R-L-ramnopiranosido (**78**), quercetina 3-O-D-galactopiranosido (**79**), galato de metilo (**80**), isovanillina (**81**), 4-hidroximetilbenzoato (**82**), 3,4-dihidroximetilbenzoato (**83**) y cafeoil aldehído (**84**).^[30]





(75) R₁= OH R₂= β-D-glc-(1→6)-β-D-glc R₃= H

(76) R₁= OH R₂= α-L-rha-(1→6) -β-D-glc R₃= H

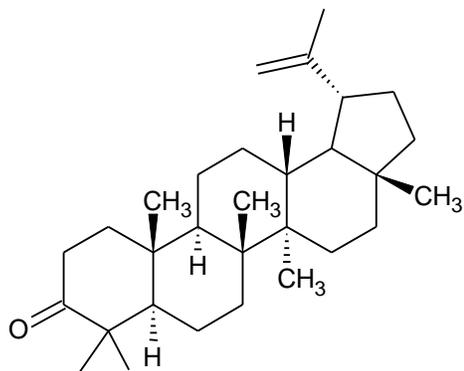
(77) R₁= H R₂=H R₃= β-D-glc

(78) R₁= H R₂= H R₃= α-L-rha

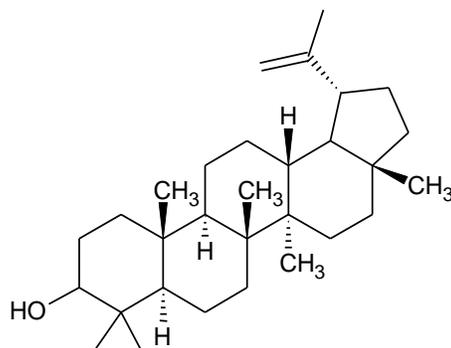
(79) R₁= H R₂= H R₃= β-D-gal

En este trabajo se evaluó la actividad antioxidante usando tres ensayos diferentes para medir los efectos de los radicales libres, TEAC, y ácido linoleico (ensayo de autooxidación). Los compuestos **(75)**, **(76)** y **(80)** mostraron actividad en la prueba TEAC, mientras que los compuestos **(9-81 y (84)** fueron moderadamente activos en el ensayo de autooxidación. ^[30]

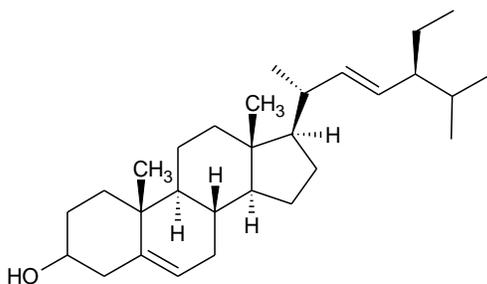
En otro estudio fitoquímico realizado por Alvino y col. al extracto metanólico de las hojas, utilizando cromatografía en columna con aumento gradual de la polaridad como método de separación, se obtuvieron cuatros compuestos identificados como: Lupenona **(85)**, Lupeol **(86)** y una mezcla de esteroides conocidos como estigmasterol **(87)** y β-sitosterol **(88)**. ^[31]



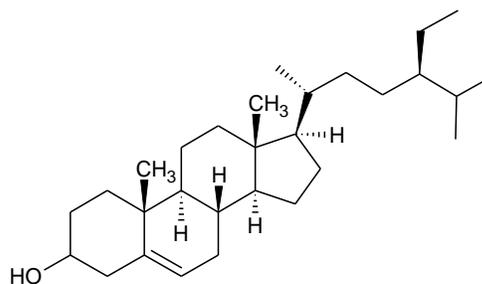
(85)



(86)



(87)



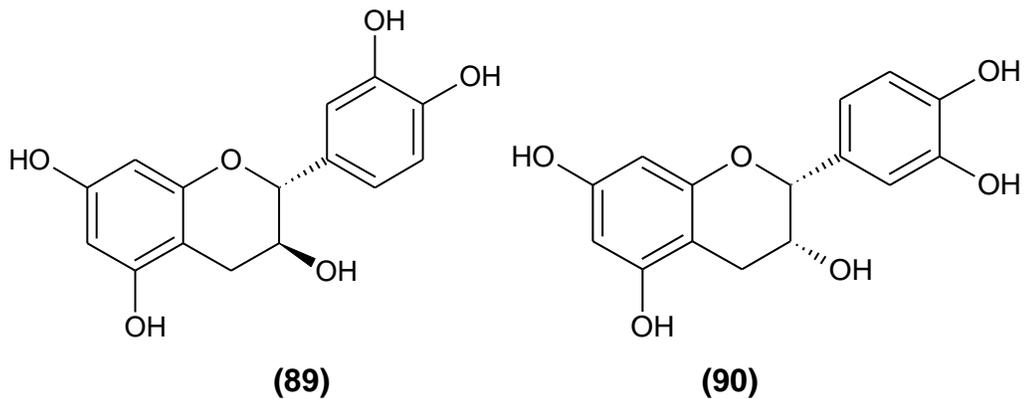
(88)

3.3.2 *Tachigali myrmecophyla*

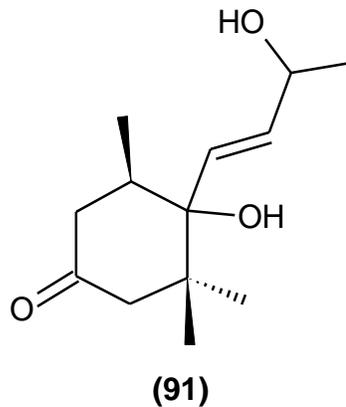
Conocida popularmente como "Tachi negro", esta especie se distribuye en el Amazonas y es un árbol muy resistente a la ausencia de luz. Se estudió su actividad alelopática en base a las observaciones de campo que mostraban que pocas plantas crecen en las

proximidades de la especie Tachi negro, lo que indica la presencia de sustancias con propiedades alelopáticas.

Lôbo L., y col, realizaron un estudio fitoquímico a las hojas de esta especie, aislando dos catequinas identificadas como: (+)-catequina **(89)** y epicatequina **(90)**.^[32]



Souza F. y col, lograron aislar de la fracción de diclorometano proveniente del extracto hidroalcohólico de las hojas de esta especie, el compuesto 4,5-dihidroblumenol A **(91)**, el cual presentó una actividad alelopática que depende de la concentración. Se observó que los efectos más altos se lograron a una concentración de 20mg/mL.^[33]



3.3.3 *Tachigali cavipes* (Spruce ex Benth).

Es un árbol que se encuentra en bosques ribereños estacionalmente inundable por aguas negras, su altura varía entre 100-200m snm y se distribuye geográficamente en Venezuela en la cuenca de los ríos Atabapo, Cunucunuma, Ventuari y la Amazonia de Colombia, Perú y Brasil. ^[34]

Al realizar la revisión bibliográfica para esta especie no se consiguió estudios fitoquímicos anteriores al de este trabajo de investigación.

4 JUSTIFICACIÓN

Tachigali Cavipes es una especie nativa de nuestro país de la cual no se conocen antecedentes fitoquímicos en la literatura. Los pocos antecedentes asociados al género *Tachigali*, permiten proponer el estudio de especies pertenecientes a este género en la búsqueda de nuevos metabolitos secundarios y no menos importante, ampliar del conocimiento químico taxonómico del género *Tachigali*, por lo cual se propuso el estudio fitoquímico de las hojas y ramas de esta planta.

Basados en los escasos antecedentes de la familia del género *Tachigali*, es probable que posea una amplia cantidad de metabolitos secundarios, como terpenos y flavonoides, puesto que estos últimos son ampliamente conocidos por presentar una amplia gama de actividades biológicas, se considera que, el estudio de esta especie puede representar un aporte importante al estudio del género *Tachigali*.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo General:

- 1) Aislar, purificar y caracterizar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en la especie *Tachigali Cavipes*.

5.2 Objetivos Específicos:

- 1) Preparar el extracto metanólico de las hojas y ramas de la planta *Tachigali Cavipes* mediante la técnica de maceración.
- 2) Aislar y purificar mediante técnicas cromatográficas los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en las hojas y ramas de la planta *Tachigali Cavipes*.
- 3) Caracterizar los compuestos aislados mediante sus propiedades físicas y técnicas espectroscópicas de IR, RMN¹H, RMN¹³C y espectrometría de masas.

6 PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Materiales

6.1.1 Material cromatográfico

- Capa fina: Placas analíticas de sílica gel 60 de 0,25mm de espesor e indicador de fluorescencia UV 254nm; marca Merck.
- Sílica gel G60 para cromatografía de columna (CC), 0,06-0,2 mm (70-230 mesh ASTM) Scharlau.
- Cromatoplasmas preparativas 20x20cm con zona de concentración 4x20cm; Merck

6.1.2 Solventes

- Acetato de etilo (AcOEt). p.a.
- Diclorometano (CH₂Cl₂). p.a.
- Metanol (MeOH). p.a.
- *n*-Hexano. p.a.
- *n*-Butanol. p.a.
- Ácido Acético (CH₃COOH) p.a.
- Ácido Fórmico (HCOOH) p.a.
- Acetona p.a.

6.1.3 Solventes para análisis de RMN.

- Cloroformo deuterado (CDCl₃).
- Metanol deuterado (MeOD).

6.1.4 Reveladores

- Anisaldehído (AS): 0,5mL de anisaldehído se mezclan con 10mL de ácido acético glacial, seguido de 85mL de metanol y 5mL de ácido sulfúrico concentrado. Se rocía la placa de TLC con el reactivo y se calienta a 100°C durante 5-10min o hasta obtener la máxima intensidad de color. La aparición de manchas amarillas y moradas en el visible es indicativo de la presencia de compuestos flavonoidales y terpenoidales respectivamente.
- Vainillina/ácido sulfúrico: El proceso de revelado consiste en rociar la placa con 10mL de una solución de vainillina al 1% en etanol y posteriormente se rocía con 10mL de una solución de ácido sulfúrico al 10% en etanol. Posteriormente se calienta a 110°C durante 5-10min y se evalúa la placa en el visible.
- Naturstoff/PEG (PN/PEG): El proceso de revelado consiste en rociar la placa con una solución al 1% de difenilboriloxietilamina en metanol, seguido por una solución etanólica al 5% de polietilenglicol 4000 (PEG). Se observa fluorescencia en UV-365nm inmediatamente o después de 15min.
- Hidróxido de potasio al 5 % en metanol (Bortränger): Se prepara una solución 5 o 10% de KOH en metanol. Se rocía la placa con esta solución y se evalúa en el visible o a la longitud de onda larga, 365nm, con o sin calentamiento. Detección de antraquinonas (rojas en el visible), antronas (amarillas, UV 365nm) y coumarinas (azul, UV 365nm).

6.1.5 Equipos

- Balanza Denver Instrumental Company, modelo AA-200.

- Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear, BRUKER. Campo aplicado para protones 600MHz y 300MHz para carbono.
- Lámpara de UV en una longitud de onda (λ 254nm) UVP modelo UL3101.

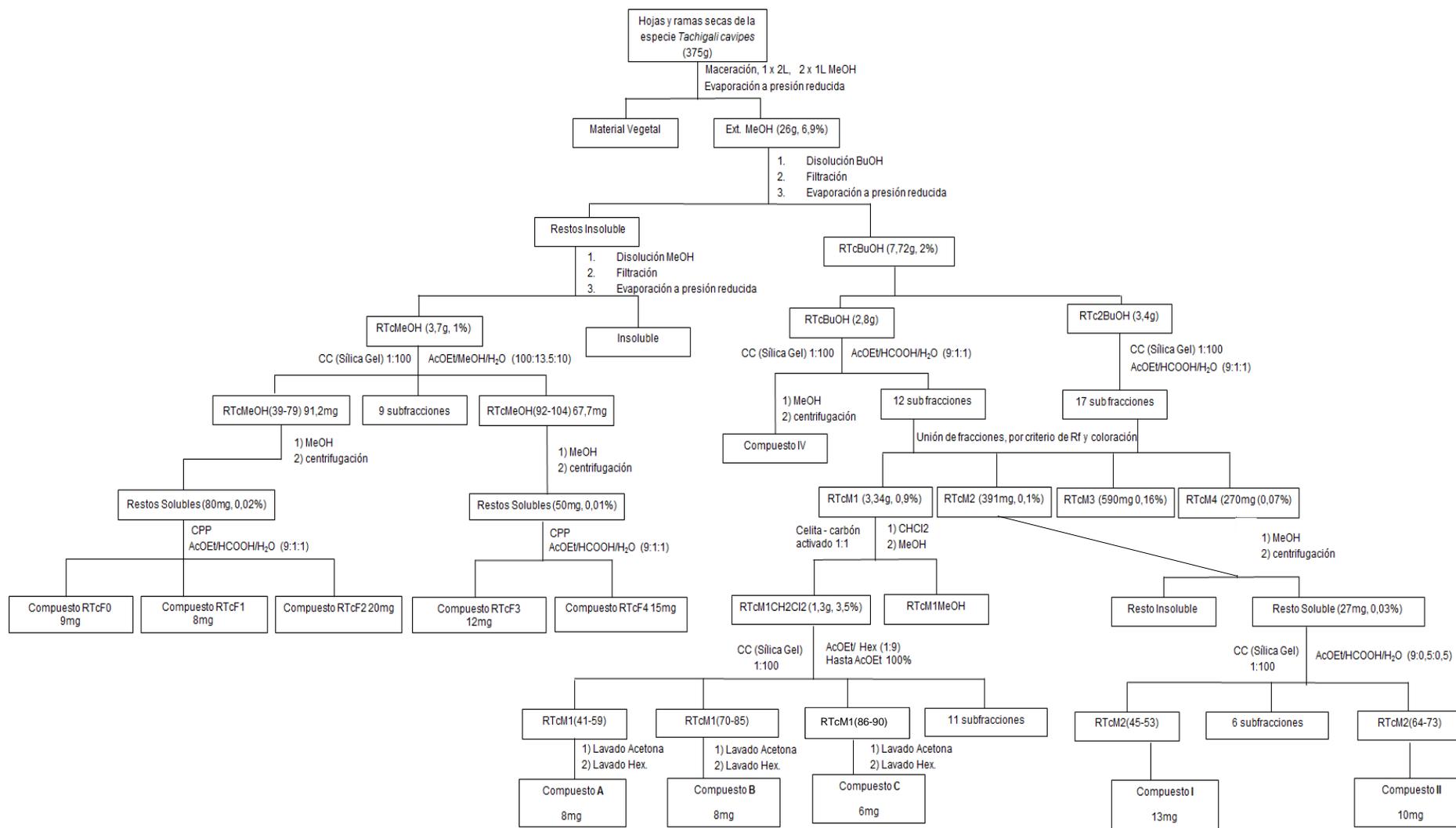
6.2 Material vegetal

Se recolectaron muestras de *Tachigali Cavipes*, en el río Sipapo vía Isla Ratón, municipio Autana, estado Amazonas. 4°54'-5°3'N; 67°34'-67°46'O, por el Dr. Anibal Castillo. Una muestra se encuentra depositada en el herbario del Jardín Botánico de la Universidad Central de Venezuela, bajo el número 5806. El material vegetal (figura 6) fue secado a temperatura ambiente, molido y luego sometido a percolación con metanol. Los extractos obtenidos fueron secados posteriormente a presión reducida.



Figura 6 Fotografía del espécimen *Tachigali Cavipes* (Spruce ex Benth). Almacenado en el Herbario Nacional de Venezuela (Jardín Botánico de la ciudad Universitaria de Caracas).

6.3 Extracción y aislamiento de los metabolitos secundarios



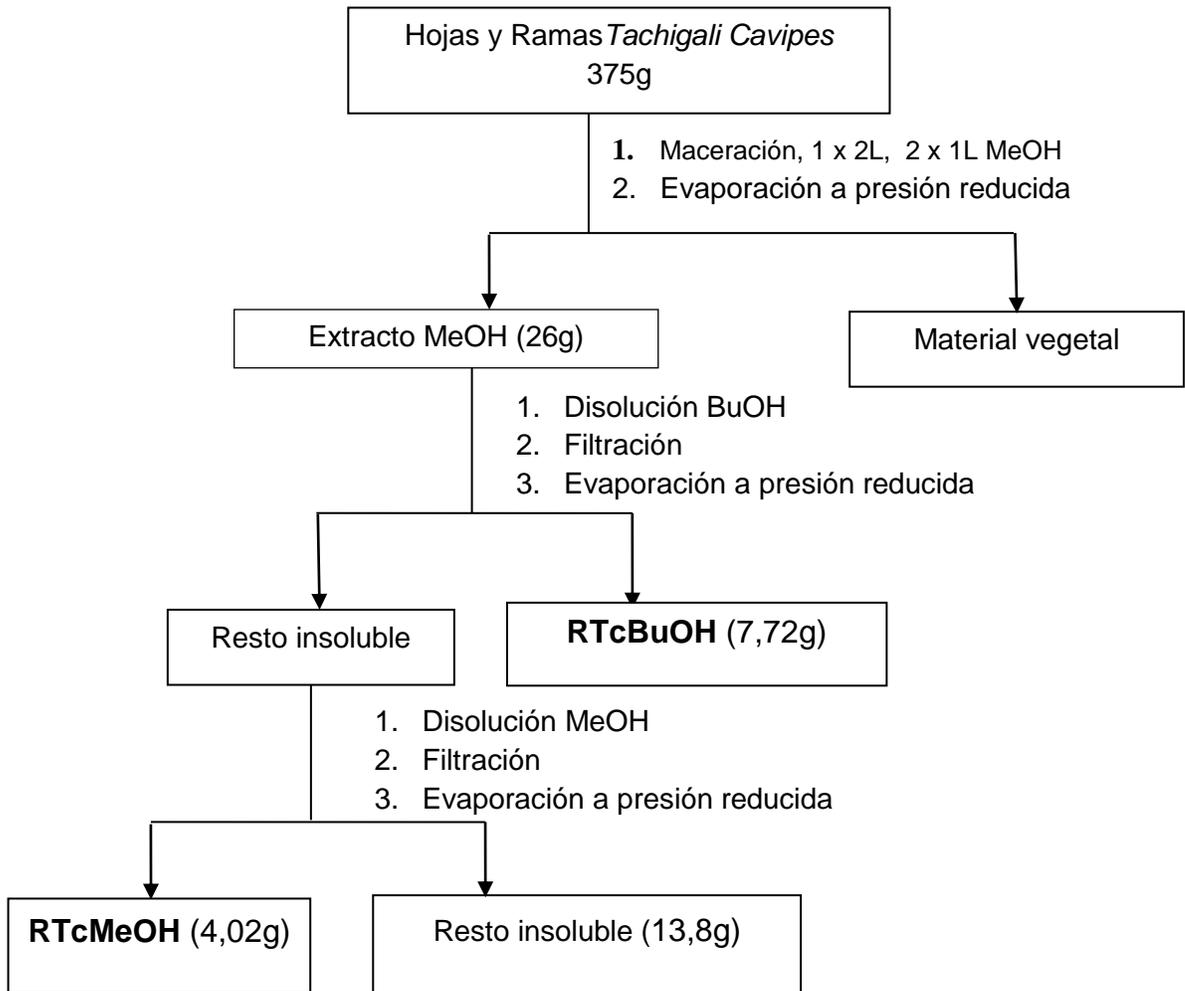
Esquema 1 Esquema de separación realizado a las hojas y ramas de la especie *Tachigali cavipes*

6.3.1 Tratamiento de las ramas y hojas de *Tachigali Cavipes*

Una vez colectada la planta, se dejó secar las hojas y ramas a temperatura ambiente por varios días. Luego, fueron molidas, obteniendo una masa total de 375g y se colocaron en maceración en 2L de MeOH, seguida de dos maceraciones con 1L de MeOH cada una. Por último, se unieron los extractos y se evaporó el solvente a presión reducida, obteniendo así el extracto metanólico.

La pasta sólida correspondiente al extracto metanólico (25,58g), se disolvió en butanol obteniéndose así una fracción soluble llamada RTcBuOH y una fracción insoluble. Esta última fue disuelta nuevamente en MeOH, obteniéndose una fracción soluble llamada RTcMeOH, y una fracción insoluble que fue llamada resto insoluble.

De la fracción RTcBuOH se obtuvo una masa de 7,72g, de la fracción RTcMeOH, se obtuvo una masa de 4,028 g y de los restos insolubles una masa de 13,82g. (esquema 2)



Esquema 2 Esquema de separación realizado al extracto metanólico crudo de las hojas y ramas de *Tachigali cavipes*.

Seguidamente, las fracciones fueron estudiadas mediante cromatografía de capa fina (CCF), visualizando las placas con una lámpara UV a 254 y 365 nm, seguida de la aplicación de una solución de *p*-anisaldehído (AS) y/o Naturstoff (PN) como agente revelador. (figura 7)

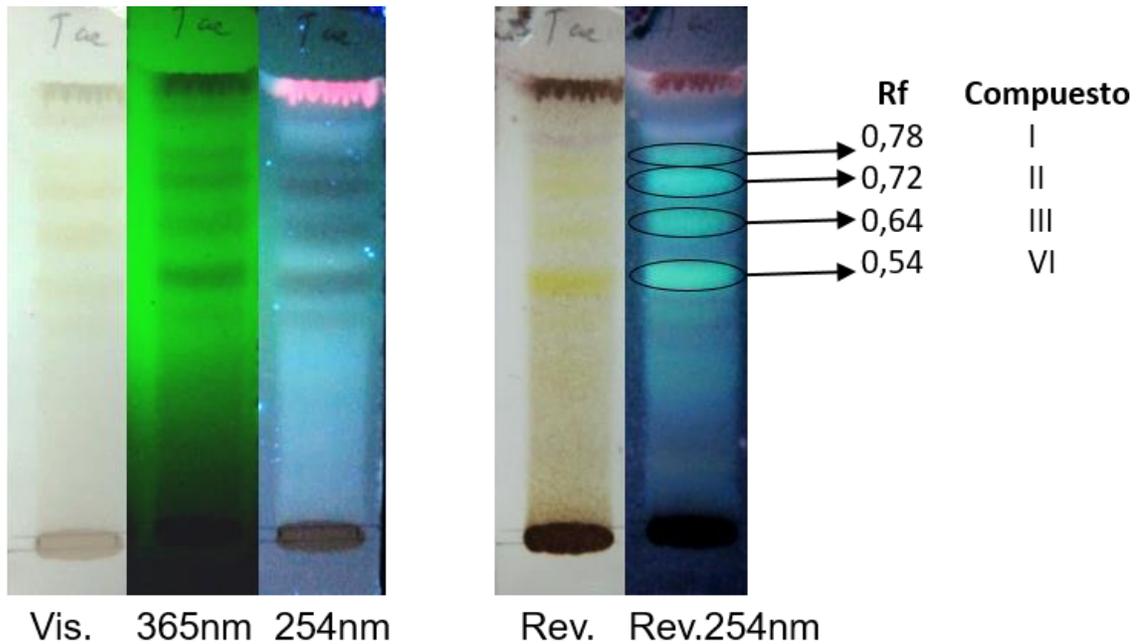


Figura 7 CCF para RTcBuOH, sistema de solvente AcOEt/Agua/AcOH/HCOOH (100:26:12:12), Revelador AS.

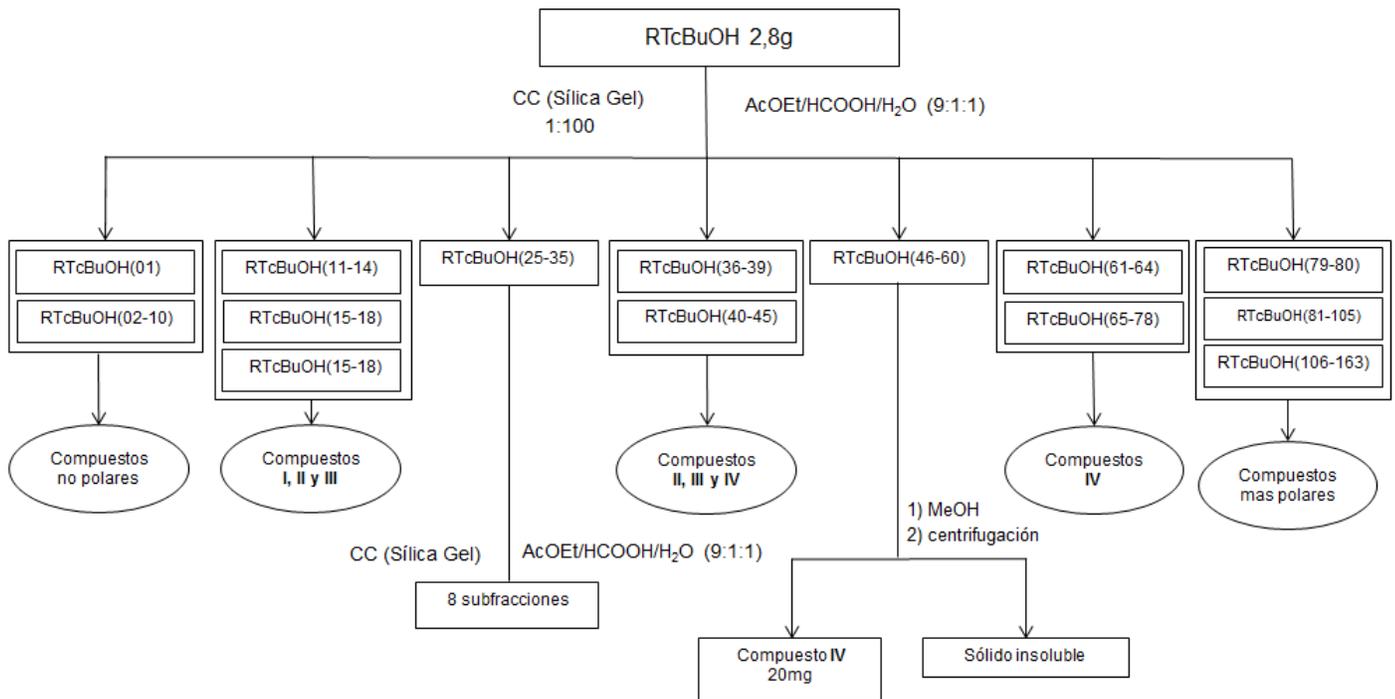
Las fracciones orgánicas fueron separadas mediante cromatografía en columna de fase normal sobre sílica gel, utilizando como eluyente diferentes solventes o mezclas de solventes orgánicos, dependiendo del caso. Las fracciones obtenidas fueron seguidas por CCF y se unieron según su similitud de Factor de retención (Rf) y coloración frente a los agentes reveladores.

6.3.2 Tratamiento de la Fracción RTcBuOH:

La separación de esta fracción se realizó mediante cromatografía en columna (CC) de fase normal, empleando como soporte sílica gel en una proporción 1:100 (peso de muestra a peso de sílica) y como fase móvil una mezcla de AcOEt/HCOOH/H₂O (9:1:1).

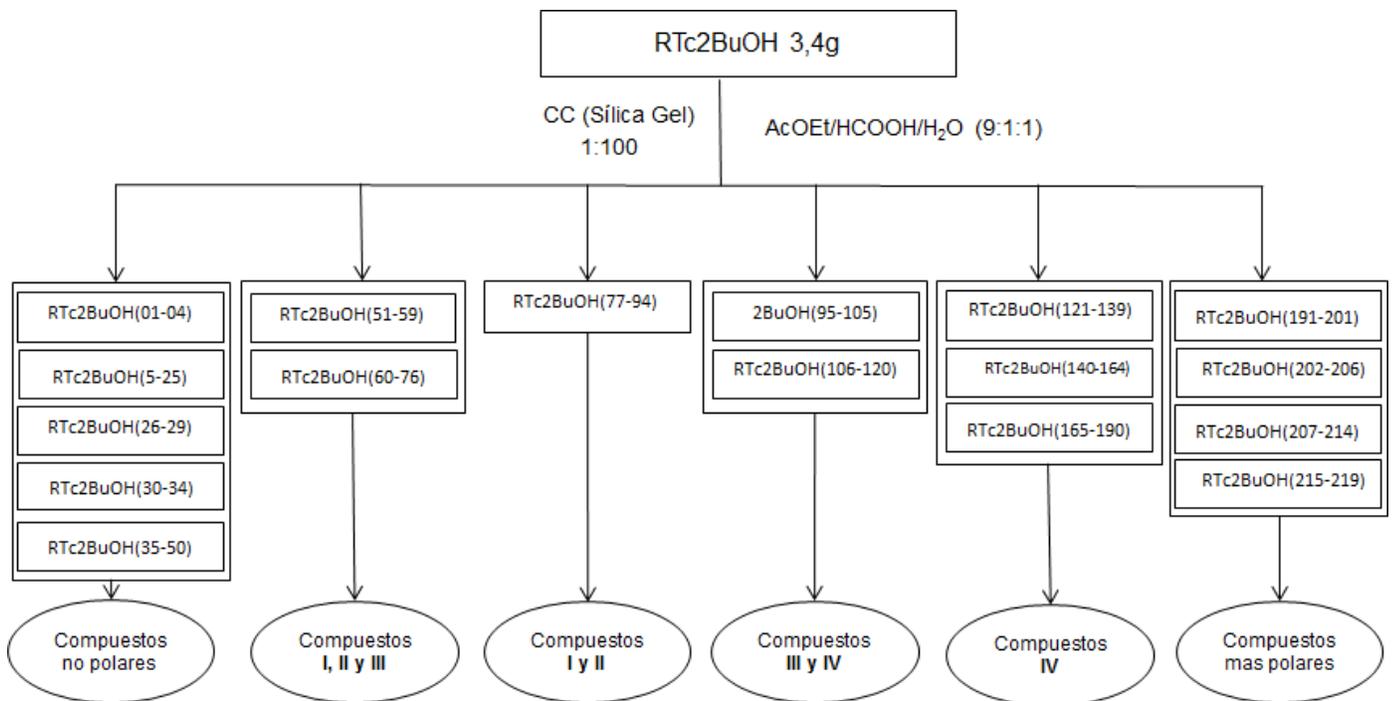
Se sembró aproximadamente 2,8g de la fracción de RTcBuOH en la columna cromatografía, de la cual se obtuvieron 126 fracciones que se reagruparon en 14 subfracciones de acuerdo al perfil cromatográfico, factor de retención (Rf) y su coloración al ser revelado con AS o PN.

La subfracción **RTcBuOH(46-60)**, (96mg), presentó una parte insoluble al ser disuelta en MeOH; luego de separada por centrifugación se obtuvo un compuesto con una masa de 20mg. Identificado como el **compuesto IV** (Esquema 3).



Esquema 3 Esquema de separación de la fracción RTcBuOH. Se indican la naturaleza química de los compuestos mayoritarios observados en CCF para cada fracción.

La subfracción **RTcMeOH (25-35)**, fue separada mediante CC de fase normal utilizando como fase móvil una mezcla de AcOEt/HCOOH/H₂O (9:1:1), obteniéndose 47 fracciones las cuales se reagruparon en 8 subfracciones. Al analizar las subfracciones se notó que las de mayor interés presentaron poca masa, por lo que se realizó el mismo procedimiento para la separación de una mayor cantidad de la fracción de RTcBuOH (3,4g). De este análisis se obtuvieron 219 fracciones, que se reagruparon en 17 subfracciones de acuerdo con la similitud de su perfil cromatográfico (Esquema 4).



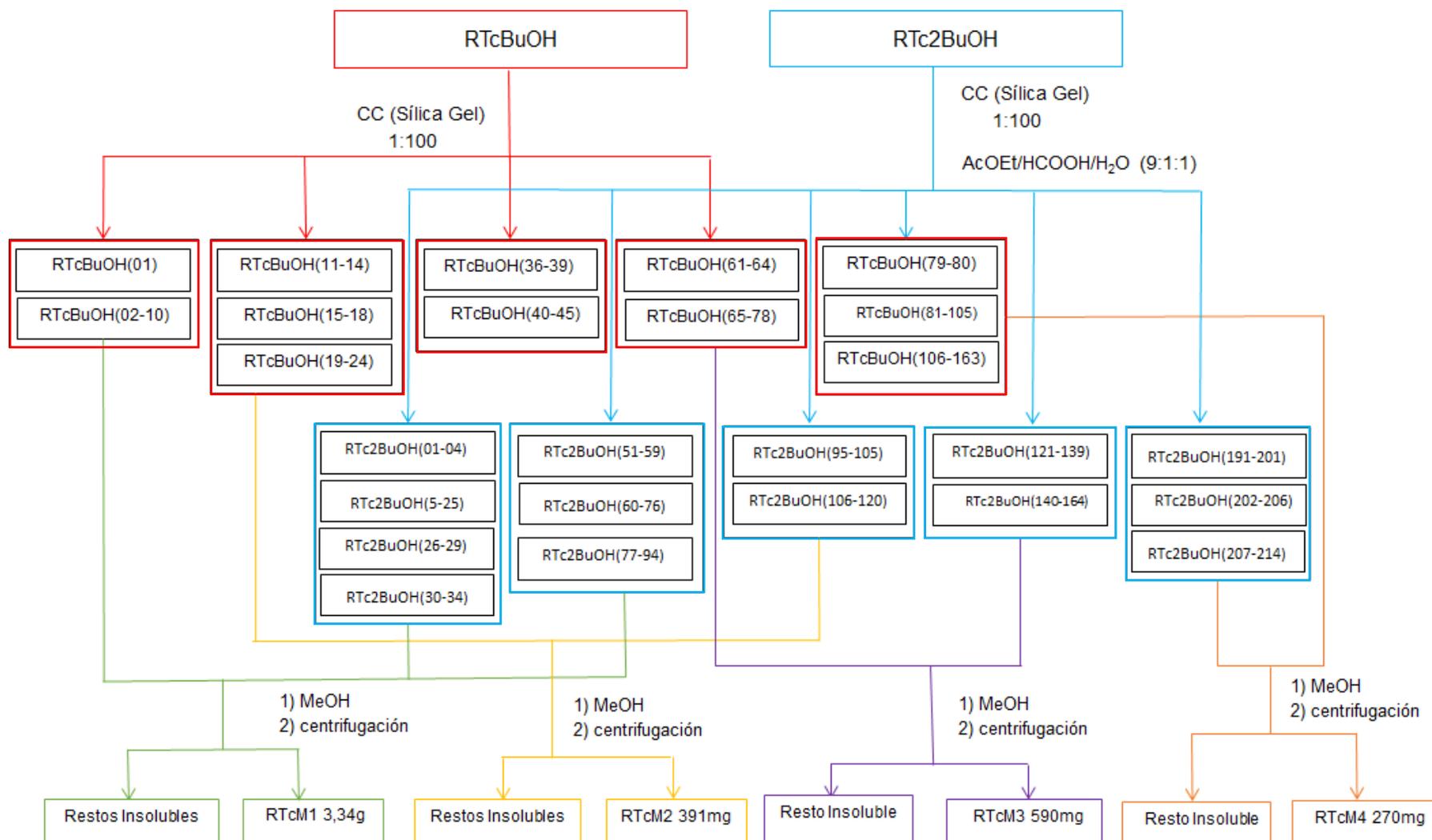
Esquema 4 Esquema de separación realizado a la segunda fracción RTcBuOH. Se indican la naturaleza química de los compuestos mayoritarios observados en CCF para cada fracción.

En ambas separaciones cromatográficas se observó la formación de un precipitado insoluble en MeOH en las subfracciones obtenidas, por la cual la masa obtenida para cada una de ellas fue menor. Se compararon las subfracciones de cada separación de la fracción RTcBuOH y se realizó la unión de fracciones similares usando como criterio el R_f de las manchas observadas en CCF y su coloración al ser revelado con AS o PN. Así, se unieron las fracciones RTc2BuOH(1-4), RTc2BuOH(5-25), RTc2BuOH(26-29), RTc2BuOH(30-34) y RTcBuOH(1), RTcBuOH(02-10), fracción llamada **RTcM1**, con una masa de 3,34g, rica en compuestos no polares.

Así mismo, se unieron las fracciones RTc2BuOH2(51-59), RTc2BuOH(60-76), RTc2BuOH(77-94), RTc2BuOH(95-105), RTc2BuOH(106-120), RTcBuOH(11-14), RTcBuOH(15-18) y RTcBuOH(19-24) como fracción **RTcM2**, rica en los compuestos **I, II y III**, con una masa de 391mg.

Adicionalmente, se unieron RTc2BuOH(121-139), RTc2BuOH(140-164), RTcBuOH(36-39), RTcBuOH(40-45), RTcBuOH(65-78) y RTcBuOH(61-64) como la fracción **RTcM3**, rica en el compuesto **IV** y de la cual se obtuvo 590mg.

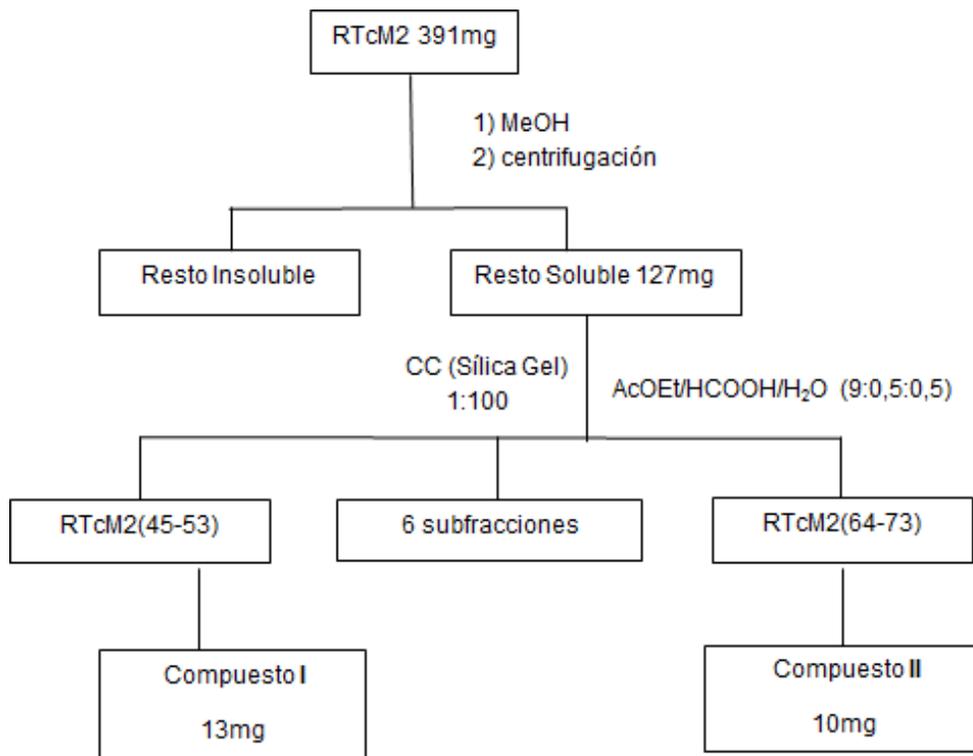
Por último, RTc2BuOH(191-201), RTc2BuOH(202-206) y RTcBuOH(207-214), se unieron para obtener la subfracción **RTcM4**, de la cual se obtuvo una masa de 270mg, rica en compuestos muy polares. (Esquema 5).



Esquema 5 Uniones de las subfracciones obtenidas en los dos esquemas de separación realizados para la fracción RTcBuOH

Al disolver la fracción **RTcM2** en MeOH y luego de separar un sólido insoluble en MeOH se obtuvo una masa de 127mg. Esta fracción fue separada mediante cromatografía en columna (CC) de fase normal empleando como soporte sílica gel en una proporción 1:100 y utilizando como fase móvil una mezcla de AcOEt/HCOOH/H₂O (9:0,5:0,5), obteniéndose 110 fracciones de las cuales se reagruparon en 8 subfracciones denominadas como RTcM2(1-44) RTcM2(45-53), RTcM2(54-63), RTcM2(64-73), RTcM2(85-94), RTcM2(95-106) RTcM2(107-110).

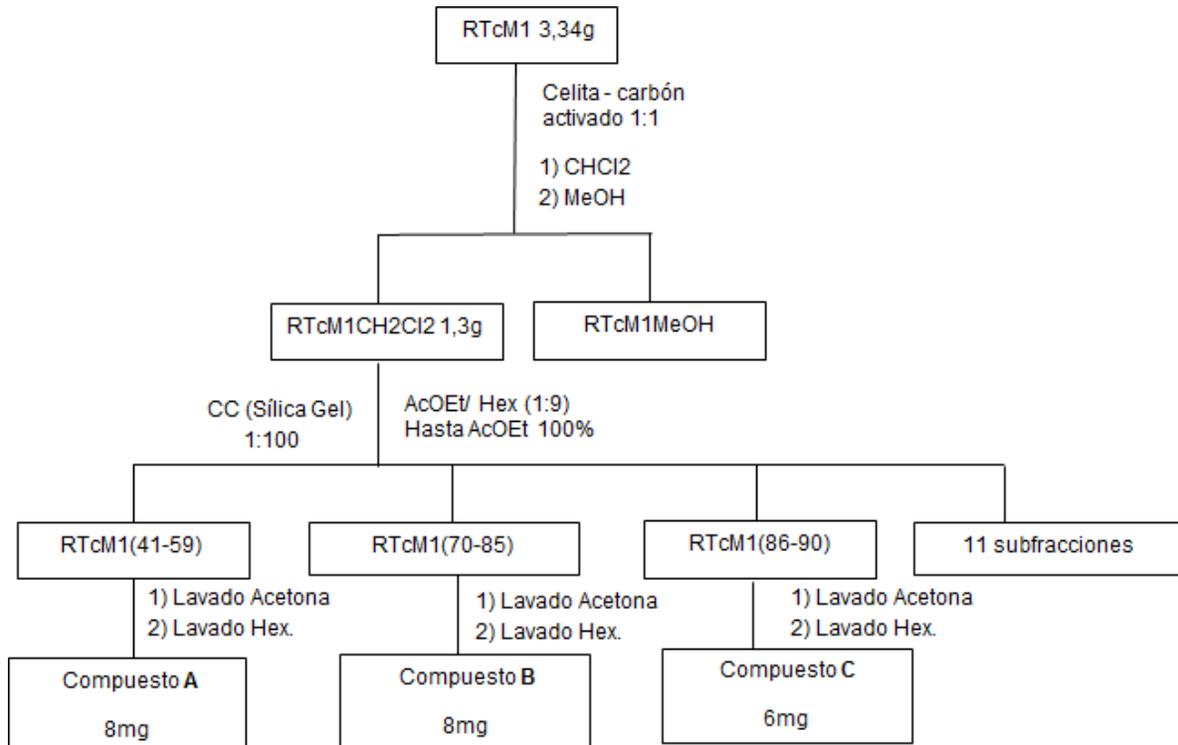
La subfracción **RTcM2(45-53)** con una masa de 11mg constituida mayoritariamente por el **compuesto I**. Por otro lado, La subfracción **RTcM2(64-73)** con una masa de 10mg, presentó mayoritariamente el **compuesto II**. (esquema 6).



Esquema 6 Esquema de separación realizado a la Fracción RTcM2.

Por otro lado, La subfracción **RTcM1** se sembró en una columna cromatográfica de celita-carbón activado 1:1, utilizando como solventes metanol y diclorometano, con el fin de eliminar las clorofilas presentes en la muestra, según el procedimiento descrito por H.T. Khor.^[35] La fracción de diclorometano fue separada mediante una columna cromatográfica (CC) empleando como soporte sílica gel en una proporción 1:100 (peso de muestra/peso de sílica) y como fase móvil AcOEt/Hex (1:9) con un gradiente de polaridad progresivo hasta llegar a 100 % AcOEt. Se sembró aproximadamente 1,3g de la fracción de RTcM1 en la columna cromatografía, de la cual se obtuvieron 145 fracciones, que se reagruparon en 14 subfracciones de acuerdo con el factor de retención (RF) de las manchas observadas CCF y su coloración al ser revelado con AS.

De esta separación, las subfracciones **RTcM1(41-59)**, **RTcM1(70-85)** y **RTcM1(71-90)** fueron lavadas varias veces con éter dietílico, seguido con lavados de hexano como método de purificación, aislándose en la subfracción **RTcM1(41-59)** unos cristales blancos con una masa de 8mg, que al ser el desarrollado en CCF con una mezcla de solvente de AcOEt/Hex (1:9) y revelado con AS se observó como una sola mancha de coloración amarilla, indicando un compuesto de alta pureza denominado **Compuesto A**. Por otra parte, en la subfracción **RTcM1(70-85)** se obtuvieron unos cristales blancos con una masa de 8mg, que al ser desarrollado en CCF con una mezcla de solvente de AcOEt/Hex (1:9) y al ser revelado con AS se observó como una sola mancha de coloración violeta, sugiriendo la presencia de un compuesto denominado **Compuesto B**. Y en la subfracción **RTcM1(71-90)** se obtuvo una grasa incolora con una masa de 6mg, que al ser el desarrollado en CCF con una mezcla de solvente de AcOEt/Hex (1:9) y al ser revelado con AS se observó como una mancha mayoritaria de coloración violeta, sugiriendo la presencia de un compuesto denominado **Compuesto C** (esquema 7).



Esquema 7. Esquema de separación realizado para la Fracción RTcM2.

6.3.3 Tratamiento de la Fracción RTcMeOH:

5.3.3.1 Tratamiento de la fracción RTcMeOH (59-79)

La separación de la fracción RTcMeOH se realizó mediante cromatografía en columna (CC) de fase normal, empleando como soporte sílica gel en una proporción 1:100 (peso de muestra / peso de sílica) y como fase móvil una mezcla de AcOEt/MeOH/H₂O (100:13,5:10).

Se sembró aproximadamente 3,7 g de la fracción de RTcMeOH, luego de la elución, se obtuvieron 206 fracciones que se reagruparon en 11 subfracciones de acuerdo a su perfil cromatográfico.

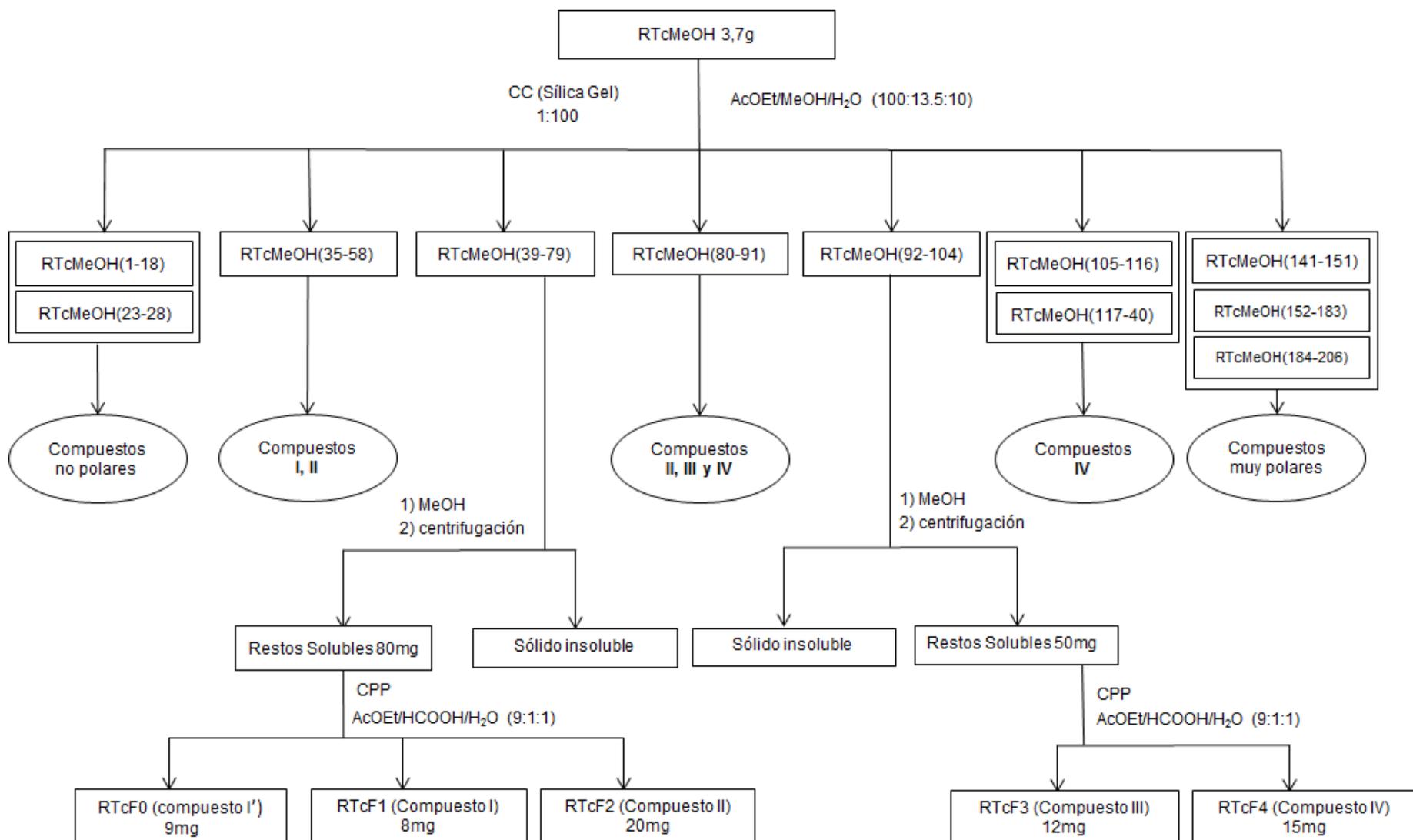
Así, la subfracción **RTcMeOH(59-79)** 80mg, fue purificada mediante cromatografía de placa preparativa (CPP) utilizando AcOEt/HCOOH/H₂O (9:1:1) como sistema de solvente obteniéndose un total de cuatro franjas, tres de ellas mostrando una coloración amarilla en el visible. Cada banda fue extraída con lavados con metanol e identificadas de la siguiente manera:

La subfracción **RTcF0** se presentó como un sólido oleoso color amarillo pálido con una masa de 9mg, que al ser desarrollado en CCF utilizando como fase móvil AcOEt/HCOOH/H₂O (9:1:1), mostró una sola banda identificándose de acuerdo con su factor de retención como el **compuesto I'**. Con respecto a la subfracción **RTcF1**, se presentó como un sólido oleoso color amarillo pálido con una masa de 8mg que al ser desarrollado en CCF utilizando como fase móvil AcOEt/HCOOH/H₂O (9:1:1) y revelado con AS, se observó una sola mancha de color amarillo en el visible y verde bajo la luz a 365nm, identificándose de acuerdo a su factor de retención como el **compuesto I**. Así mismo, la subfracción **RTcF2**, se presentó como un sólido oleoso color amarillo con una masa de 20mg, que al ser desarrollado en CCF utilizando como fase móvil AcOEt/HCOOH/H₂O (9:1:1), mostró una sola mancha de color amarillo en el visible y verde bajo la luz a 365nm, identificándose de acuerdo a su factor de retención como el **compuesto II**. (Esquema 8).

5.3.3.2 Tratamiento de la fracción RTcMeOH (92-104)

Por otro lado, la subfracción **RTcMeOH(92-104)** fue purificada mediante cromatografía de placa preparativa (CPP) utilizando AcOEt/HCOOH/H₂O (9:1:1) como sistema de solvente. Para el desarrollo de la placa se utilizaron 50mg, obteniéndose un total de cuatro franjas, dos de las cuales presentaron coloración amarilla en el visible. Cada banda fue raspada cuidadosamente y extraída con metanol; las fracciones mostraron las siguientes características.

La subfracción **RTcF3** se presentó como un sólido oleoso color amarillo/naranja con una masa de 12mg que al ser desarrollado por CCF y revelado con AS utilizando como fácul móvil AcOEt/HCOOH/H₂O (9:1:1), mostró una sola mancha de color amarillo en el visible y verde a 365nm. Identificándose de acuerdo a su factor de retención como el **compuesto III**. Por otro lado, **RTcF4** se presentó como un sólido oleoso color amarillo/naranja con una masa de 15mg, que al ser desarrollado en CCF utilizando AcOEt/HCOOH/H₂O (9:1:1) y revelado con AS, se observó una sola mancha de color amarillo en el visible y verde bajo la luz a 365nm. Identificándose de acuerdo a su factor de retención como el **compuesto IV**. (Esquema 8).



Esquema 8. Esquema de separación para la fracción RTcMeOH.

7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Comportamiento cromatográfico del extracto de *Tachigali cavipes*

Se realizó un análisis comparativo de los extractos metanólicos de tres especies del género *Tachigali*: *Tachigali cavipes* (Cav), *Tachigali chrysophylla* (Ch) y *Tachigali paniculata* (Pa), por medio de cromatografía de capa fina, utilizando diferentes sistemas de solventes y usando como agentes reveladores anisaldehído y Borntrager.

Para el sistema de solvente Cloroformo/CH₃COOH/MeOH/H₂O (64:32:12:8) (Figuras 8 y 9), se observaron manchas de coloración amarillas en el visible (con quenching de fluorescencia a 254 nm y fluorescencia a 365nm para algunas de las manchas), en todo el recorrido de la placa para los tres extractos, asociadas, por su comportamiento, a posibles flavonoides glicosilados. En el caso de *paniculata*, se observaron manchas de color violetas asociadas a la presencia de terpenos glicosilados. Vale la pena destacar que los tres extractos mostraron un comportamiento diferente cuando la placa se colocó bajo luz UV 365 nm antes y después de rociada, sin embargo, pudo notarse un comportamiento similar para las especies Ch y Pa. El comportamiento de los extractos al ser rociada la placa con KOH, es similar al observado al tratar la misma con AS, observándose la desaparición de las bandas de los terpenos en Pa y la intensificación de la coloración de las bandas asociadas a flavonoides, indicando así la presencia de flavonoides con estructuras conjugadas como flavonoles, flavonas, etc.

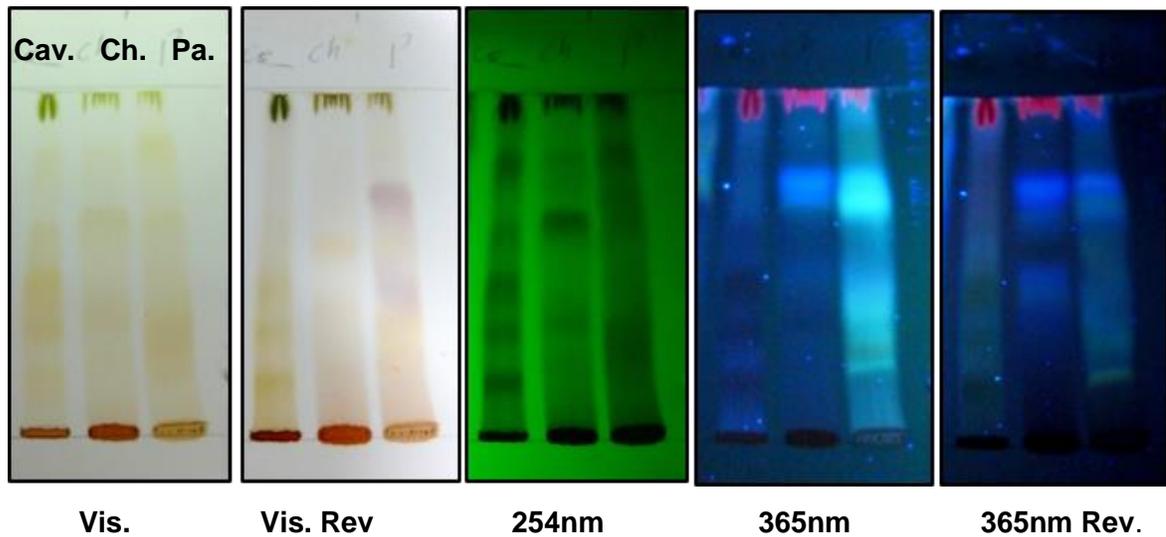


Figura 8 CCF sistema de solvente Cloroformo/ CH_3COOH / MeOH / H_2O (64:32:12:8), revelador AS.

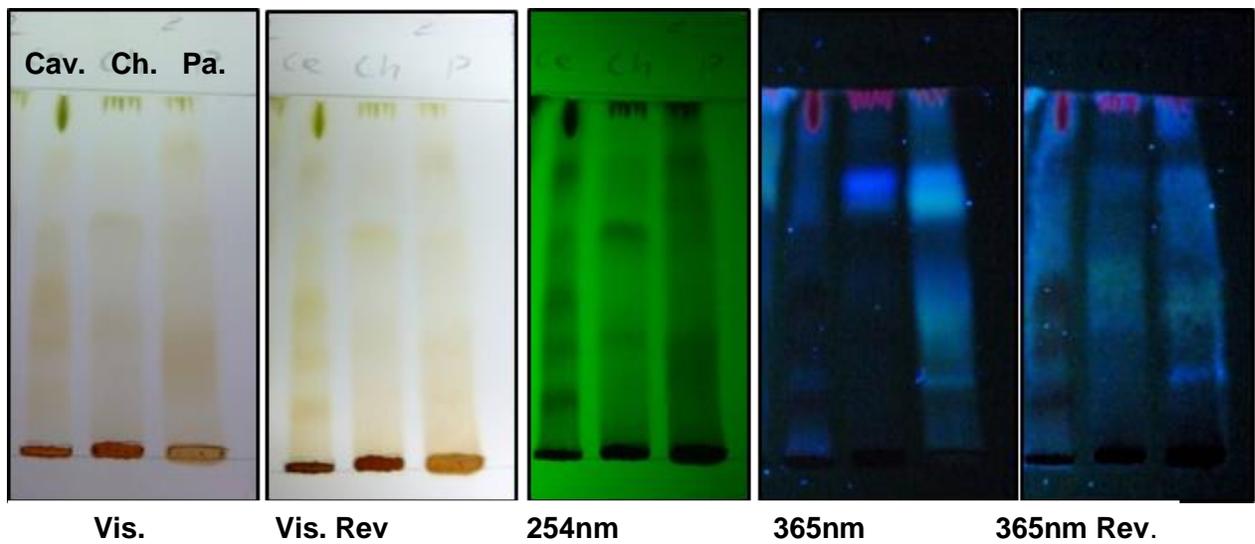


Figura 9 CCF Sistema de solvente Cloroformo/ CH_3COOH / MeOH / H_2O (64:32:12:8), revelador KOH.

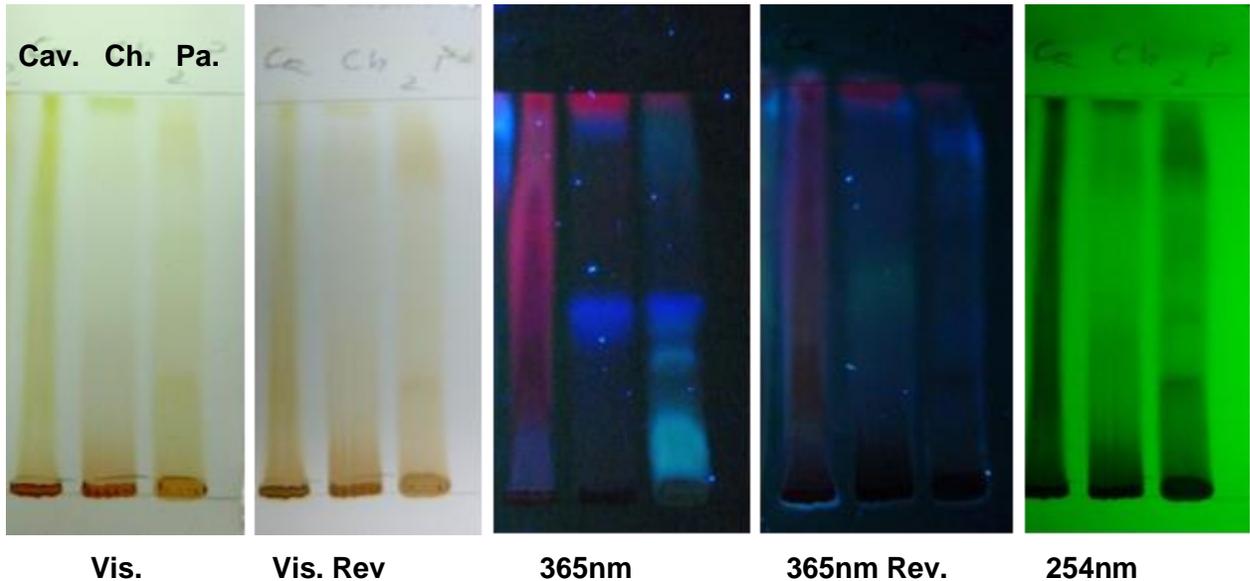


Figura 10 CCF Sistema de solvente AcOEt/MeOH/H₂O (100:13.5:10), revelador KOH.

Bajo el sistema de solvente AcOEt/MeOH/H₂O (100:13.5:10) (Figura 10) se observaron manchas de coloración amarillas en el visible (con quenching de fluorescencia a 254 nm y fluorescencia a 365nm para algunas de las manchas), en todo el recorrido de la placa para los tres extractos. Vale la pena destacar que en el caso de la especie *Cavipes*, se pudo observar la presencia de una banda continua de coloración rojiza a 365 nm atribuida a la presencia de clorofilas unidas a un resto de característica oleosa que luego pudo determinarse que correspondía a ceras que hicieron difícil la separación de los metabolitos de interés. Igualmente, pudo observarse gran similitud entre los extractos Ch y Pa.

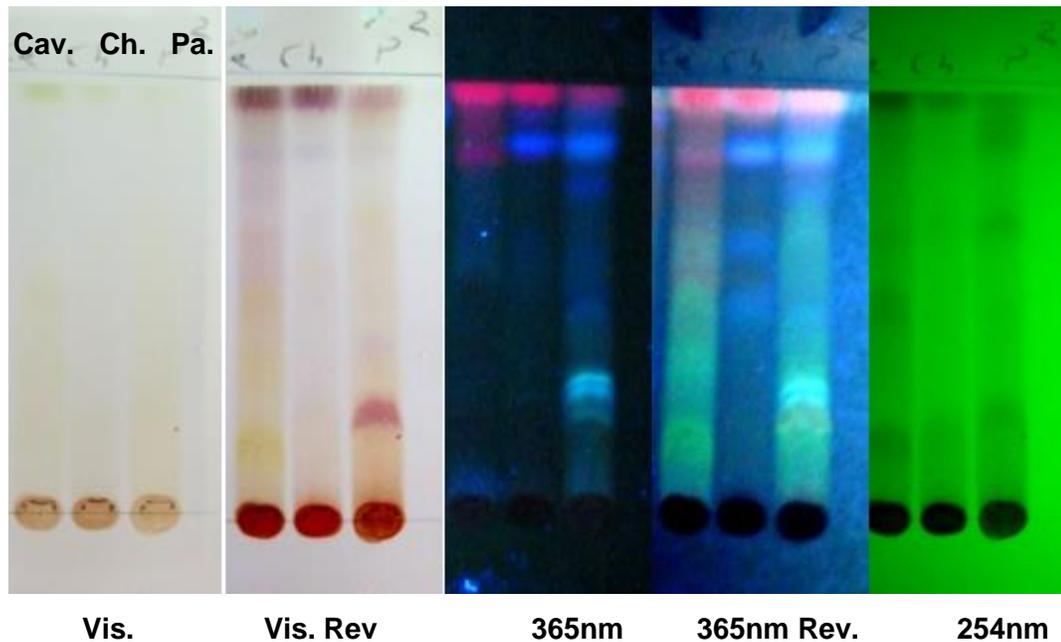


Figura 11 CCF Sistema de solvente Cloroformo/MeOH/H₂O (70:30:3), revelador AS.

Cuando se realiza la comparación de las tres especies en un sistema de solventes utilizado para la separación de saponinas, es posible observar diferencias en los extractos. En el caso particular de *Tachigali cavipes* (Cav.) (Figura 11)., se observó un desarrollo continuo a lo largo de la placa con manchas amarillas sobre un fondo blanco, este último asociado a la presencia de ceras o grasas en el extracto. Las manchas amarillas que se observan al ser reveladas con AS y sometidas a luz 365nm presentan coloración verde típico para compuesto del tipo flavonoidal.

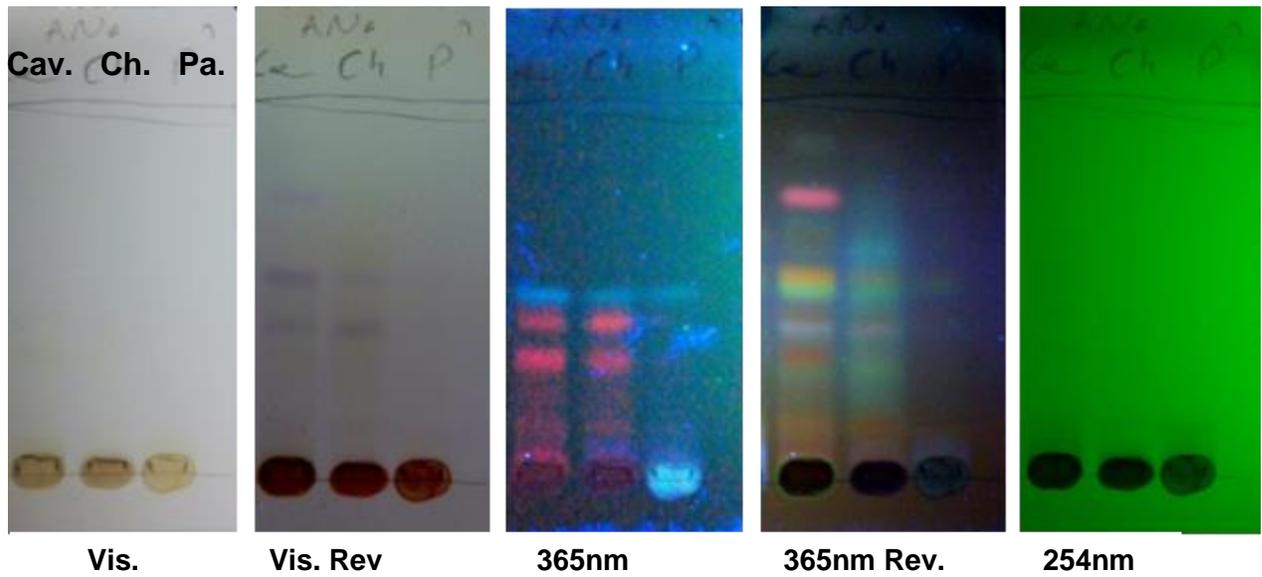


Figura 12 CCF Sistema de solvente Hexano/AcOEt/HCOOH (75:25:1), revelador AS.

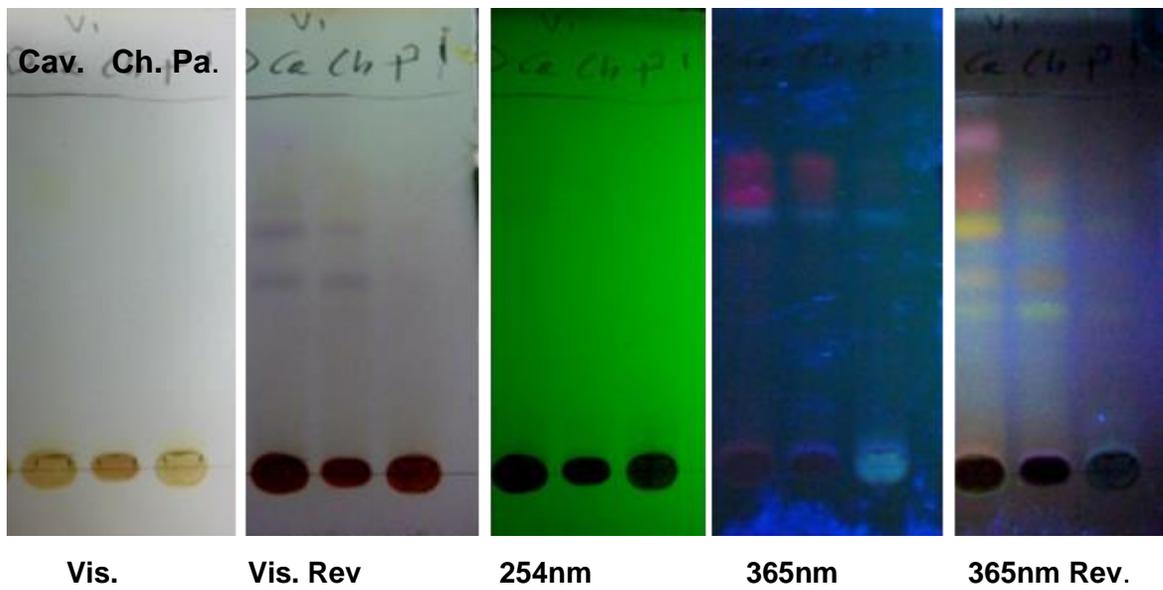


Figura 13 CCF Sistema de solvente Tolueno/AcOEt (75:25), revelador AS.

Al utilizar sistemas de solventes con menor polaridad (Figuras 12 y 13), se observaron eluciones más limpias y con manchas más intensas y definidas para los tres extractos; que al ser reveladas con AS se observó la presencia de diversas manchas de coloración violeta y amarillo. Las manchas violetas presentaron una coloración amarilla/naranja bajo la luz 365nm característico de núcleos terpénicos. Por otra parte, se observó gran similitud entre los tres extractos de las diferentes especies del género *Tachigali*, lo que indica que su composición terpenoidal es semejante. Vale la pena destacar que en el caso de la especie *paniculata* (Pa), se observó la ausencia de clorofilas, abundantes en las especies *Cavipes* (Cav) y *Chrysophylla* (Ch).

7.2 Aislamiento e Identificación de compuestos

La caracterización de los compuestos aislados de las hojas y ramas de la planta *Tachigali Cavipes* se llevó a cabo por medio de técnicas espectroscópicas de RMN ^1H , RMN ^{13}C y DEPT-135.

7.2.1 Compuesto I':

El **compuesto I'** se aisló como un sólido oleoso color amarillo pálido con un peso de 9mg, soluble en agua y metanol. En el análisis realizado por CCF presentó un $R_f=0.88$ al ser desarrollado con una mezcla AcOEt/HCOOH/H₂O (9:1:1) Este compuesto se observó en la placa cromatográfica como una mancha oscura a 254nm indicando que presenta por lo menos dos dobles enlaces conjugados.

En el espectro de RMN ^1H realizado en MeOD (anexos 2-4), se pudieron observar señales desde 0,8 ppm hasta 8.1 ppm, indicando la presencia de una mezcla compleja de compuestos. Así, se observan señales características de protones aromáticos así como señales típicas de hidrógenos unidos a oxígenos entre 3.0ppm a 4.2 ppm. A campo alto se observan señales entre 0.8ppm y 2.4ppm asociadas a protones de cadenas carbonadas formando o no ciclos. La relación que existe entre las señales mostradas en el espectro de RMN ^1H (anexo 1), indica la presencia de alguna base oleosa en mayor proporción que los compuestos polifenólicos que se observan en el espectro, los cuales, de acuerdo con el análisis de CCF previo realizado, se encuentran presentes en el extracto, indicando que al realizar la separación cromatográfica de este compuesto la base oleosa no pudo ser separada, esto se evidencia en las placas de CCF (Figuras 8, 9 10 y 11). Vale la pena destacar que el espectro de RMN ^{13}C de esta muestra no fue realizado debido a la mezcla de señales y por lo tanto, no se logró identificar el compuesto aromático.

7.2.2 Compuesto I:

El **compuesto I** se aisló como un sólido oleoso color amarillo pálido con un peso de 8mg, soluble en agua y metanol. Este compuesto se logró aislar a partir de la fracción RTcBuOH y RTcMeOH, siendo aislado en esta última el utilizado para los análisis de RMN.

En el análisis realizado por CCF presentó un $R_f=0.74$ al ser desarrollado con una mezcla AcOEt/HCOOH/H₂O (9:1:1). Luego de rociar la placa cromatográfica con el agente revelador AS, se observó como una mancha amarilla en el visible y verde intenso bajo luz a 365nm, característica de flavonoides. Al ser revelado con el reactivo PN/PEG se observó en como una mancha amarilla intensa en el visible y amarillo bajo luz a 365nm característico de flavonoles.

En el espectro de RMN ¹H realizado en MeOD (anexos 6-8) entre 5.7ppm y 7.8 ppm se observan señales características de protones aromáticos, también se observaron señales típicas de hidrógenos unidos a oxígenos entre 3.0ppm a 4.0 ppm mientras que en campo altos se observan señales entre 0.7ppm y 2.6ppm, asociadas a protones sobre cadenas carbonadas. La relación que existe entre las señales mostradas en el espectro de RMN ¹H (anexo 5), indica la presencia de un resto oleoso tipo cera en mayor proporción que el o los compuestos polifenólicos que se observan en el espectro, sugiriendo que al realizar la separación cromatográfica de este compuesto la base oleosa no pudo ser separada debido a que esta cera se extiende a lo largo de la columna al ser eluida, esto se evidencia en la placa de CCF (Figuras 8, 9, 10 y 11). El espectro de RMN ¹³C de esta muestra no fue realizado, por lo que no se logró identificar el compuesto.

7.2.3 Compuesto II:

El **compuesto II** se aisló como un sólido oleoso color amarillo con un peso de 20mg, soluble en agua y metanol. Este compuesto se logró aislar a partir de la fracción RTcBuOH y RTcMeOH, este último fue el utilizado para los análisis de RMN. En el análisis realizado por CCF presentó un $R_f=0.70$ al ser desarrollado con una mezcla AcOEt/HCOOH/H₂O (9:1:1) Este compuesto se observó en la placa cromatográfica después de rociarla con el agente revelador AS, como una mancha amarilla en el visible y verde intenso a 365nm, característica de flavonoides. Al ser revelado con PN/PEG, se observó como una mancha amarilla intensa en el visible y amarillo bajo luz a 365nm característico de flavonoles.

En el espectro de RMN ¹H realizado en MeOD (anexos 10-12) se pudieron observar desplazamientos químicos entre 5.4 ppm y 7.9 ppm característicos de protones aromáticos, así como señales típicas de hidrógenos unidos a oxígenos entre 3.0ppm a 4.5 ppm; por último, a campo altos se observan señales entre 0.7ppm y 2.5ppm asociadas a protones sobre cadenas alifáticas o cíclicas. La relación que existe entre las señales mostradas en el espectro de RMN ¹H (anexo 9), indica la presencia un compuesto parafilico en mayor proporción que los compuestos polifenólicos que se observan en el espectro, indicando que, al realizar la separación cromatográfica de este compuesto, la base oleosa no pudo ser separada (Figuras 8, 9 11 y 12). Tal como se indicó en el caso de los compuestos I' y I, no se logró identificar este compuesto.

7.2.4 Compuesto III:

El **compuesto III** se aisló como un sólido oleoso color amarillo con un peso de 12mg, soluble en agua y metanol. En el análisis realizado por CCF presentó un $R_f=0.56$ al ser desarrollado con una mezcla AcOEt/HCOOH/H₂O (9:1:1). Este compuesto se observó en la placa cromatográfica como una mancha amarilla en el visible y verde intenso bajo

luz a 365nm característica de flavonoides, luego de rociarla con el agente revelador AS. Al ser revelado con PN/PEG, se observó como una mancha amarilla intensa en el visible y amarillo a 365nm, característico de flavonoles.

En el espectro de RMN ^1H realizado en MeOD (anexos 14-16), se pudieron observar señales a diferentes desplazamientos químicos entre 6.4 y 8.1 ppm asociadas a protones aromáticos, así como señales típicas de protones unidos a heteroátomos entre 3.1 y 4.7 ppm. A campo alto se observan señales entre 0.7 y 2.4ppm asociadas a protones de metilenos y metilos de cadenas carbonadas. La relación que existe entre las señales mostradas en el espectro de RMN ^1H (anexo 13), indica la presencia de una mezcla que contiene uno o más compuestos derivados de ácidos grasos en mayor proporción que los compuestos polifenólicos que se observan en el espectro, los cuales de acuerdo con el análisis de CCF previo realizado se encontraron presentes en el extracto, indicando que al realizar la separación cromatográfica de este compuesto, esta base cerosa no pudo ser separada debido a que dicha grasa se extiende a lo largo de la columna al ser eluida, esto se evidencia en la placa de CCF (figuras 8, 9, 11 y 12). Se realizó el espectro de RMN ^{13}C pero no se observaron señales de utilidad (anexo 18, 19 y 20). Por lo anterior, no se logró identificar el compuesto o compuestos aromáticos presentes en la mezcla.

7.2.5 Compuesto IV:

El **compuesto IV** se aisló como un sólido oleoso color amarillo-naranja pálido con un peso de 15mg, soluble en agua y metanol. Este compuesto se logró aislar a partir de la fracción RTcBuOH y RTcMeOH, la muestra aislada en esta última fue utilizada para los análisis de RMN. Este compuesto se observó en la placa cromatográfica como una mancha con $R_f=0,4$, al ser desarrollado con una mezcla AcOEt/HCOOH/H₂O (9:1:1) después de rociarla con el agente revelador AS; color amarillo en el visible y verde intenso bajo luz a 365nm, característica de flavonoides. Al ser revelado con PN se

observó como una mancha amarilla intensa en el visible y amarillo bajo luz a 365nm característico de flavonoles.

En el espectro de RMN ^1H realizado en MeOD (anexo 23-25), se observaron señales a diferentes desplazamientos químicos entre 6.3 ppm y 8.1 ppm, señales características de protones aromáticos, así como señales típicas de protones unidos a heteroátomos entre 3.1ppm a 4.5ppm mientras que en campo altos se observan señales entre 0.8ppm y 2.4ppm asociadas a protones de metilenos y metilos de cadenas carbonadas. La relación que existe entre las señales mostradas en el espectro de RMN ^1H (anexo 13), indica la presencia de una mezcla que contiene uno o más compuestos derivados de ácidos grasos en mayor proporción que los compuestos polifenólicos que se observan en el espectro, los cuales de acuerdo con el análisis de CCF previamente realizado se encontraron presentes en el extracto, indicando que al realizar la separación cromatográfica de este compuesto, esta base cerosa no pudo ser separada debido a que dicha grasa se extiende a lo largo de la columna al ser eluida, esto se evidencia en la placa de CCF (figuras 9, 10, 11 y 12). Se realizó el espectro de RMN ^{13}C pero no se observaron señales de utilidad (anexo 26). Por lo anterior, no se logró identificar el compuesto o compuestos aromáticos presentes en la mezcla.

7.2.6 Compuesto A:

El **compuesto A** se aisló como un sólido cristalino color blanco con un peso de 8mg, soluble en cloroformo y diclorometano. En el análisis realizado por CCF presentó un $R_f=0.7$ al ser desarrollado con una mezcla Hexano-Acetato de etilo (9:1). Este compuesto se observó en la placa cromatográfica después de rociarla con el agente revelador AS, como una mancha amarilla oscura en el visible.

Al observar los espectros de RMN del compuesto, se identificaron señales típicas de un núcleo triterpénico. Al comparar los datos espectroscópicos con los reportados en la literatura para diversos esqueletos triterpénicos, se encontró que la estructura en estudio correspondía a la del compuesto Friedelina. (Figura 14).

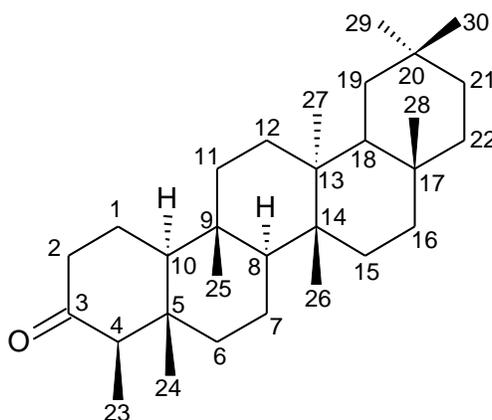


Figura 14 Estructura del compuesto A
(Friedelina)

En el espectro de RMN ^1H (Figura 15) tomado en CDCl_3 , se observan desplazamientos químicos característicos de núcleos triterpénicos. Así, a campo alto se observan siete singletes con desplazamientos de 0.70, 0.85, 0.99, 1.03, 1.16, 0.93 y 0.98 ppm correspondientes a grupos metilos unidos a un ciclo, por lo que fueron asignados a los protones H-24, H-25, H-26, H-27, H-28, H-29 y H-30, respectivamente. Asimismo, a un

desplazamiento de 0.87ppm se observa un singlete ancho asignado para el protón H-23.

Por otro lado, se observan tres multipletes con desplazamientos de 2.38, 2.23 y (1.95-1.68)ppm correspondientes a grupos metilenos del núcleo triterpénico, los cuales fueron asignados a los protones H-2, H-4 y H-1, respectivamente. (Figura 15).

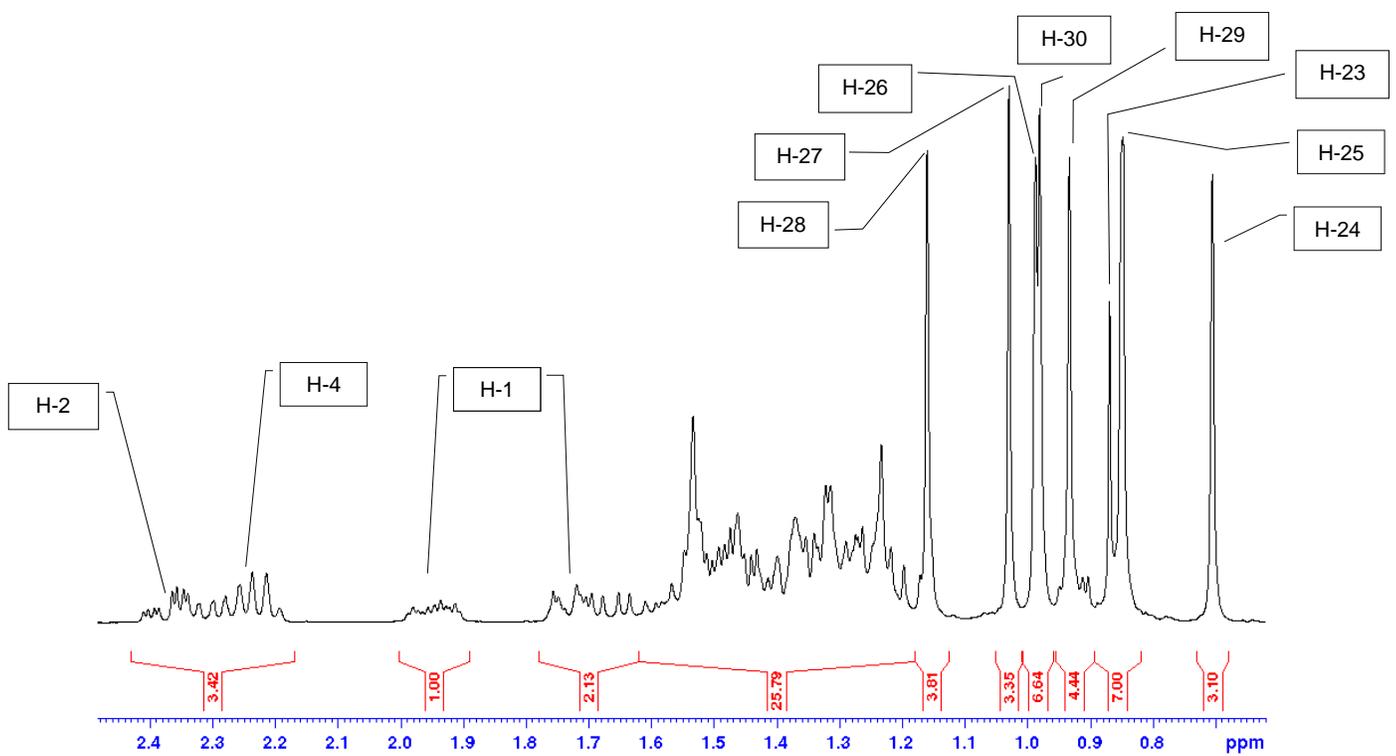


Figura 15 Espectro de RMN ^1H del compuesto A (CDCl_3 , 300MHz).

En el espectro de RMN ^{13}C (Figura 16 y 18), se observan un total de treinta señales corroborando que se trata de un núcleo triterpénico. De esta manera, a campo bajo se observa una señal en 213,1ppm característica de un grupo carbonilo, asignado al carbono C-3 por consideraciones biosintéticas.

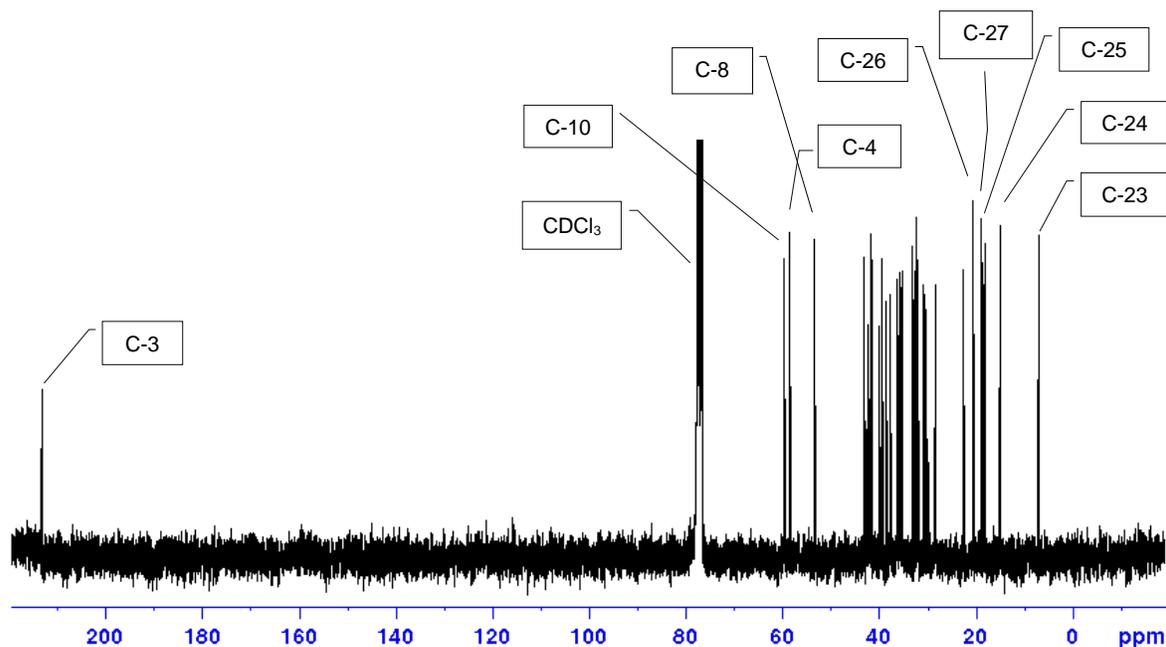


Figura 16 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto A (CDCl_3 , 75MHz).

A campo alto se observaron señales características de carbonos del tipo metílicos, metilénicos y metinos, que con ayuda del espectro DEPT-135 (Figura 17) (anexos 37-40) permitió su identificación de la siguiente manera: cuatro de ellas corresponden a carbonos metínicos asignados a los carbonos: C-4, C-8, C-10 y C-18; ocho de estas señales fueron asignadas a carbonos de tipo metílicos asignados a los carbonos C-23, C-24, C-25, C-26, C-27, C-28, C-29 y C-30 y once señales a carbonos del tipo metilénico asignados para C-22, C-21, C-19, C-16, C-15, C-12, C-11, C-7, C-6, C-1 y C-2. Por otra parte, seis de las señales fueron asignadas a los carbonos cuaternarios C-20, C-17, C-13, C-14, C-9 y C-5.

Se realizó una revisión bibliográfica del género *Tachigali* y no se encontró ningún reporte anterior para el aislamiento de Friedelina para este género. Por lo anterior se reporta por primera vez la Friedelina en el género *Tachigali*.

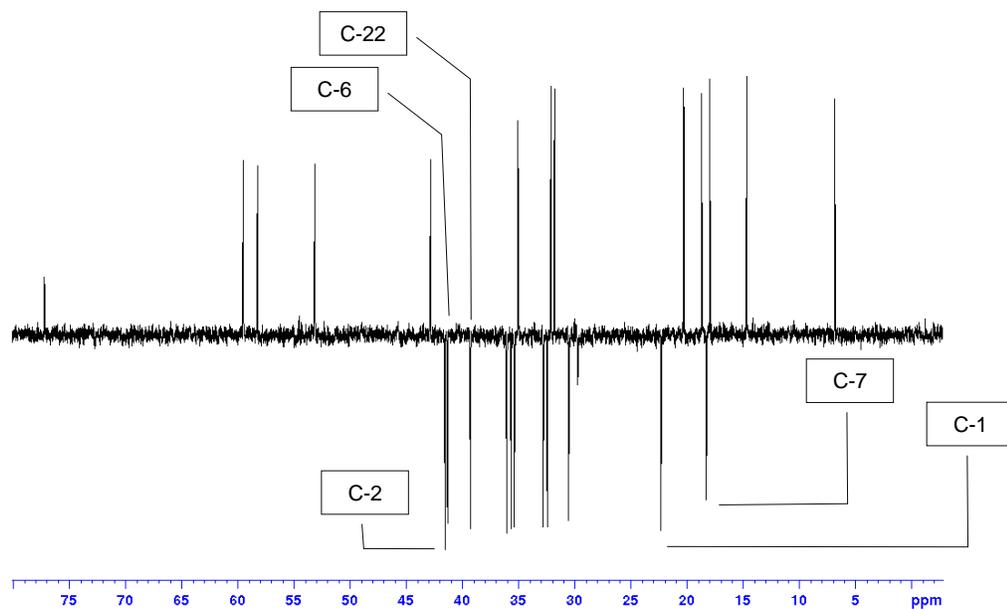


Figura 17 Espectro de DEPT-135 del compuesto A (CDCl_3 , 75MHz).

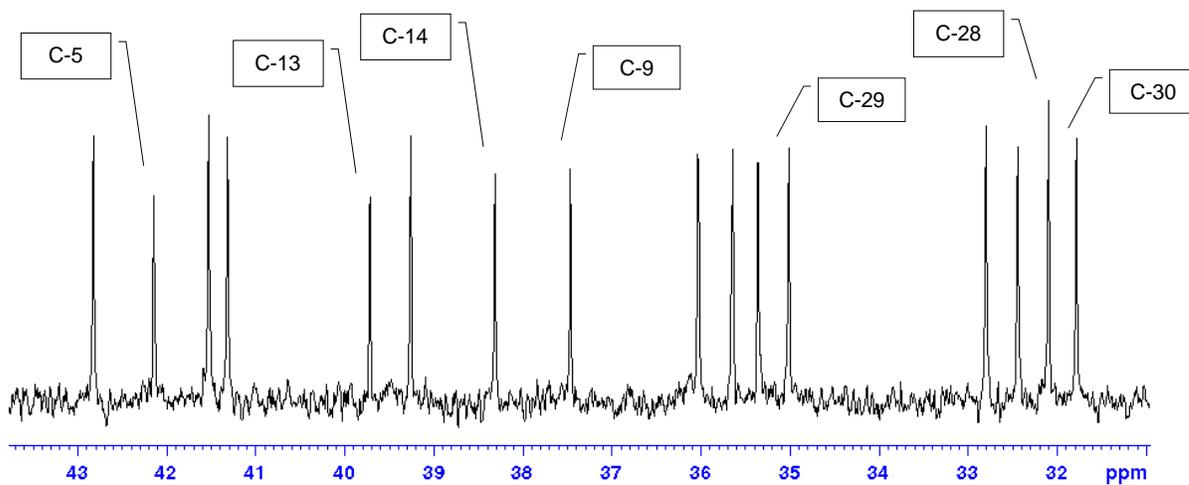


Figura 18 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto A entre 43 y 32 ppm (CDCl_3 , 75MHz).

Tabla 1: Comparación de los datos espectroscópicos para el compuesto A con los datos reportados en la literatura.

H/C	Experimental en CDCl ₃			Reportado tomado en CDCl ₃ [36]		
	δ_H (ppm) 300MHz	δ_C (ppm) 75MHz	DEPT	δ_H (ppm) a 400MHz	δ_C (ppm) a 100MHz	DEPT
1	1.68 (m), 1.96 (m)	22.3	CH ₂	1.69 (m), 1.97 (m)	22.3	CH ₂
2	2.38 (m), 2.31 (m)	41.5	CH ₂	2.31 (m), 2.39 (m)	41.5	CH ₂
3	-	213.1	C=O	-	213.2	C=O
4	2.22ppm	58.2	CH	2,25 (m)	58.2	CH
5	-	42.1	C	-	42.1	C
6	1.27 (m), 1.74 (m)	41.3	CH ₂	1.29 (m), 1.75 (m)	41.3	CH ₂
7	1.37 (m), 1.48 (m)	18.2	CH ₂	1.38 (m), 1.49 (m)	18.2	CH ₂
8	1.4 (m)	53.1	CH	1.41 (m)	53.1	CH
9	-	37.5	C	-	37.4	C
10	1.51 (m)	59.5	CH	1.55 (m)	59.4	CH
11	1.32 (m), 1.43 (m)	35.6	CH ₂	1.26 (m), 1.46 (m)	35.6	CH ₂
12	1.34 (m)	30.5	CH ₂	1.34 (2H,m)	30.5	CH ₂
13	-	39.7	C	-	39.7	C
14	-	38.3	C	-	38.3	C
15	1.29 (m), 1.50 (m)	32.4	CH ₂	1.32 (m), 1.51 (m)	32.4	CH ₂
16	1.41 (m), 1.50 (m)	36.0	CH ₂	1.39 (m), 1.59 (m)	36.0	CH ₂
17	-	30.0	C	-	30.0	C
18	1.58 (m)	42.8	CH	1.56 (m)	42.8	CH
19	1.18 (m), 1.37 (m)	35.3	CH ₂	1.21 (m), 1.38 (m)	35.3	CH ₂
20	-	28.2	C	-	28.1	C
21	1.23 (m), 1.45 (m)	32.8	CH ₂	1.28 (m), 1.43 (m)	32.7	CH ₂
22	0.91 (m), 1.53 (m)	39.2	CH ₂	0.95 (m), 1.53 (m)	39.2	CH ₂
23	0.87 (3H, s)	6.80	CH ₃	0.88 (3H, d,7)	6.80	CH ₃
24	0.70 (3H, s)	14.7	CH ₃	0.73 (3H ,s)	14.6	CH ₃

H/C	Experimental en CDCl ₃			Reportado tomado en CDCl ₃ [36]		
	δ_H (ppm) 300MHz	δ_C (ppm) 75MHz	DEPT	δ_H (ppm) a 400MHz	δ_C (ppm) a 100MHz	DEPT
25	0.85 (3H, s)	17.9	CH ₃	0.87 (3H, s)	17.9	CH ₃
26	0.97 (3H, s)	20.3	CH ₃	1.01 (3H, s)	20.2	CH ₃
27	1.03 (3H, s)	18.6	CH ₃	1.05 (3H, s)	18.6	CH ₃
28	1.16 (3H, s)	32.1	CH ₃	1.18 (3H, s)	32.1	CH ₃
29	0.93 (3H, s)	35.0	CH ₃	0.95 (3H, s)	35.0	CH ₃
30	0.98 (3H, s)	31.8	CH ₃	1.00 (3H, s)	31.8	CH ₃

7.2.7 Compuesto B:

El **compuesto B** se aisló como un sólido cristalino color blanco con un peso de 8mg, soluble en cloroformo y diclorometano. En el análisis realizado por CCF presentó un $R_f=0.4$ al ser desarrollado con una mezcla Hexano-Acetato de etilo (9:1). Este compuesto se observó en la placa cromatográfica como una mancha violeta oscura en el visible, la cual es característica de los núcleos terpenoidales, luego de rociarla con el agente revelador AS.

Al observar los espectros de RMN, se evidenció que este compuesto presentaba una mezcla de compuestos, sin embargo, se identificaron señales típicas de un núcleo triterpénico. Los datos espectroscópicos fueron comparados con los reportados en la literatura para diversos esqueletos triterpénicos, encontrándose que la estructura en estudio correspondía a la del compuesto Taraxerol (Figura 19). Por otra parte, se observan señales típicas de un éster metílico de un ácido graso, identificado como compuesto **B₁** (Figura 20).

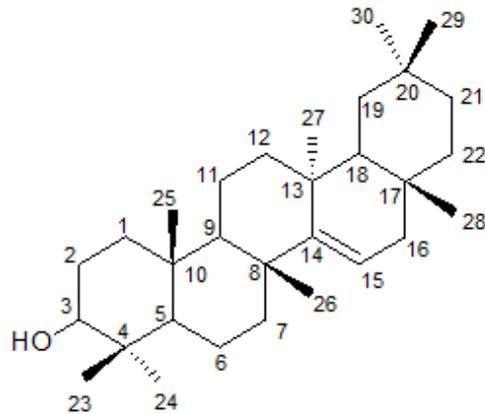


Figura 19 Estructura del Compuesto **B** (Taraxerol)

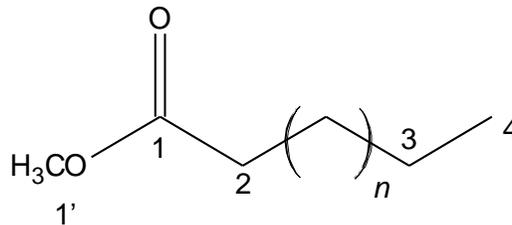


Figura 20 Estructura del compuesto **B₁**

Así, en el espectro de RMN ^1H (Figura 21) tomado en CDCl_3 , se observaron señales correspondientes a un núcleo triterpénico. Así, a campo alto se observan siete singletes con desplazamientos de 0.96, 0.90, 0.78, 1.07, 0.8, 0.93 y 0.89 ppm correspondientes a grupos metilos unidos a carbonos cuaternarios del triterpeno, asignados a los protones H-23, H-24, H-25, H-26/H-30, H-27, H-28, H-29 y H-30, respectivamente. Centrados en 1.9 ppm y 2.1 ppm se observan dos multipletes asignados a H-16 y H-19. Por otro lado, a campo bajo se observaron un doblete de doblete centrado en 5,51 ppm con constantes de acoplamiento de 8,1 y 3,3 Hz (Figura 22), característico de un metino unido a un enlace olefínico, asignado a H-15.

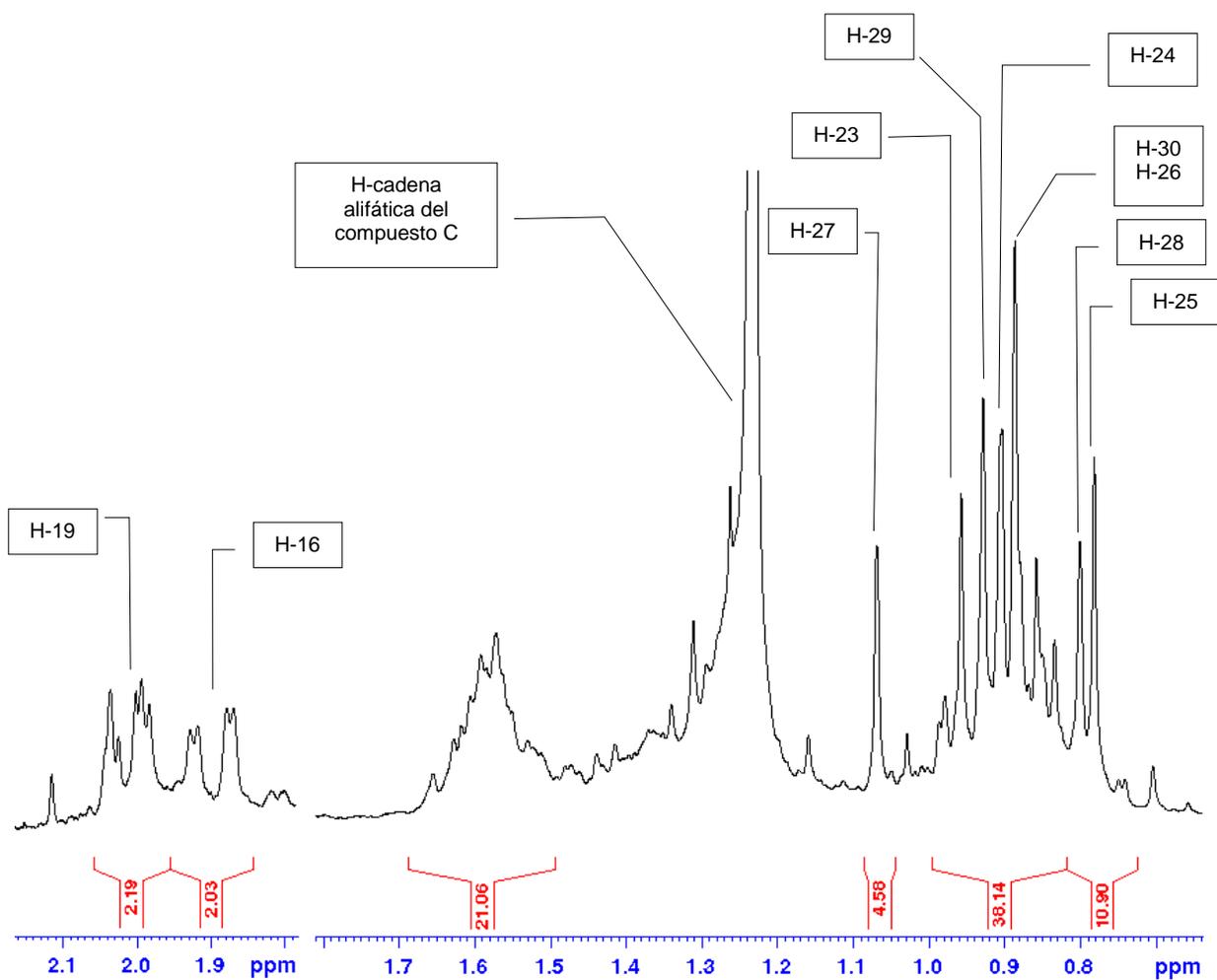


Figura 21 Espectro de RMN ^1H del compuesto B (CDCl_3 , 300MHz).

Por otro lado, se observa un multiplete centrado en 3,70 ppm característico de la sustitución en posición C-3 de un grupo hidroxilo en el núcleo triterpénico, asignado a H-3 (Figura 22).

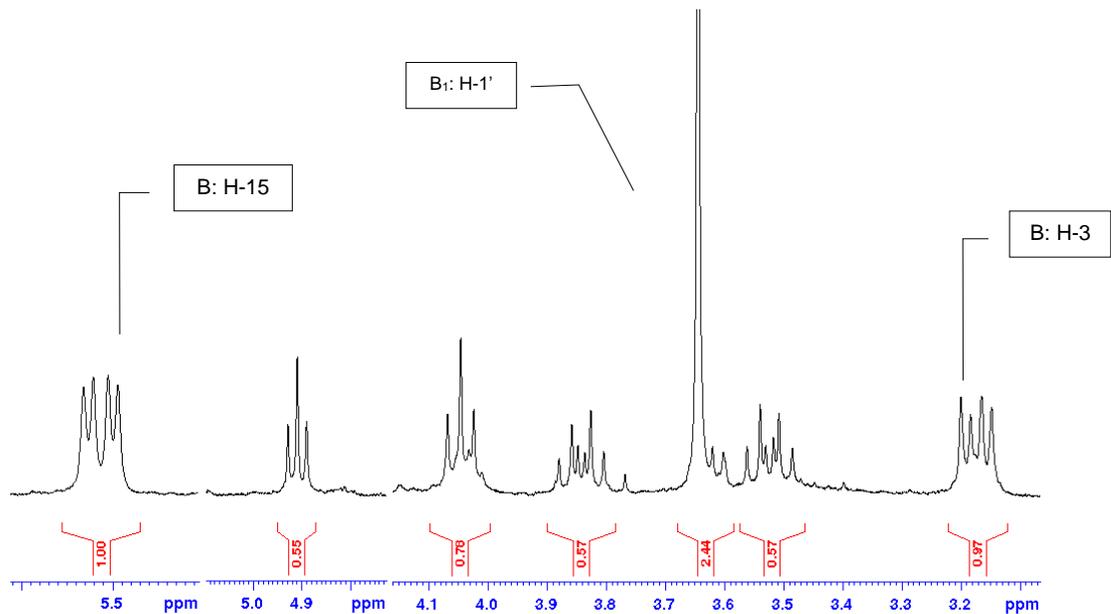


Figura 22 Espectro de RMN ^1H a campo alto del compuesto B y C (CDCl_3 , 300MHz).

En el espectro de RMN ^{13}C (figura 23), se observaron señales asociadas a un núcleo triterpénico con un doble enlace $-\text{CH}=\text{C}-$ en 158.1 y 116.8ppm asignados a los carbonos C-14 y C-15, respectivamente. A un desplazamiento de 79.07ppm se observa una señal característica de un metino unido a un grupo hidroxilo, asignada al carbono C-3 por consideraciones biosintéticas.

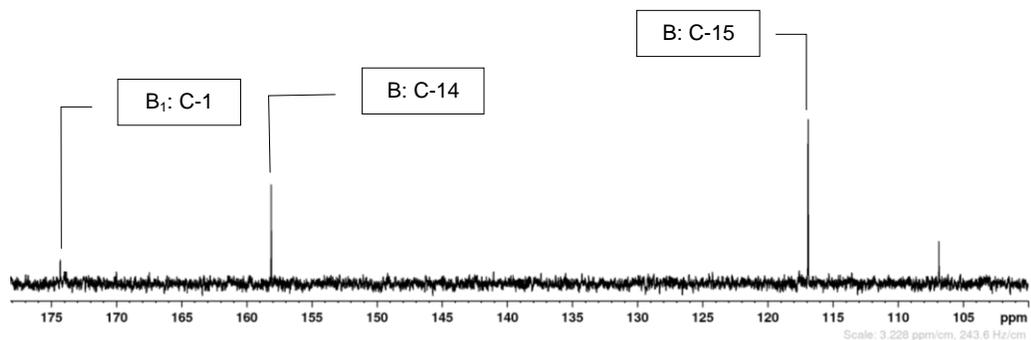


Figura 23 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto B y C a campo bajo (CDCl_3 , 75MHz).

Adicionalmente, se observan diferentes señales características de carbonos metílicos, metilénicos y metinos, que con ayuda del espectro DEPT-135 (anexos 54-58) fueron identificadas de la siguiente manera: diez señales corresponden a carbonos metilénicos asignado a: C-1, C-2, C-6, C-7, C-11, C-12, C-16, C-19, C-21 y C-22. Ocho señales corresponden a carbonos de metilos sobre carbonos cuaternarios asignadas a C-23, C-24, C-25, C-26, C-27, C-28, C-29 y C-30 y tres señales asociadas a metinos asignados a C-5, C-9 y C-18. Por último, se observan seis señales asignadas a carbonos cuaternarios en C-4, C-8, C-10, C-13, C-17 y C-20 (Figuras 24 y 25).

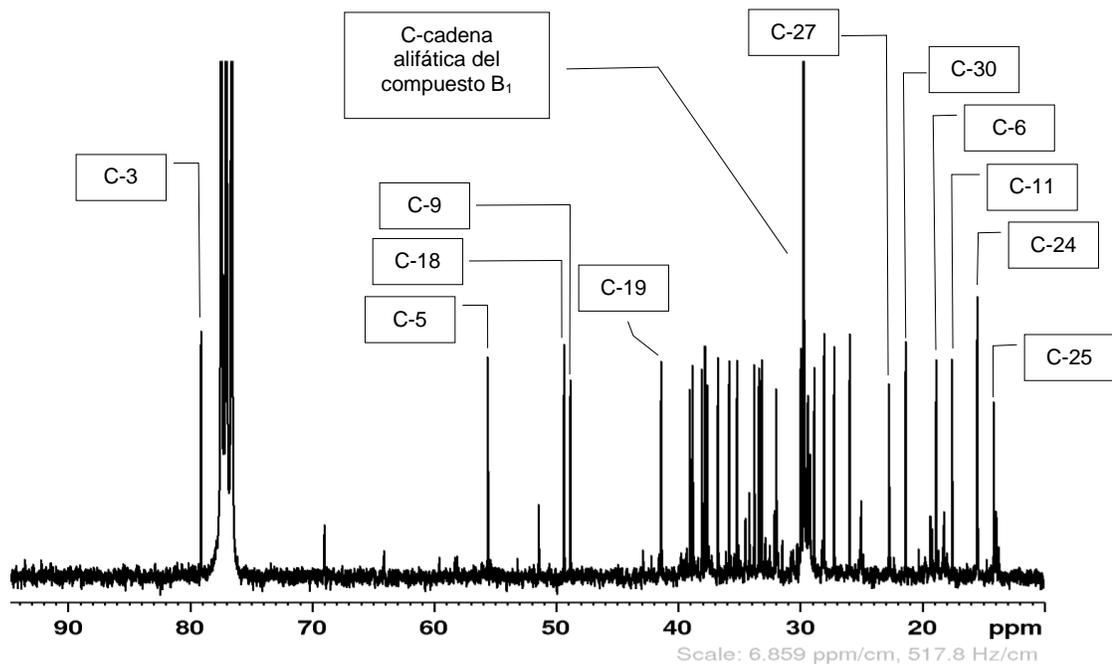


Figura 24 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto B (CDCl_3 , 75MHz).

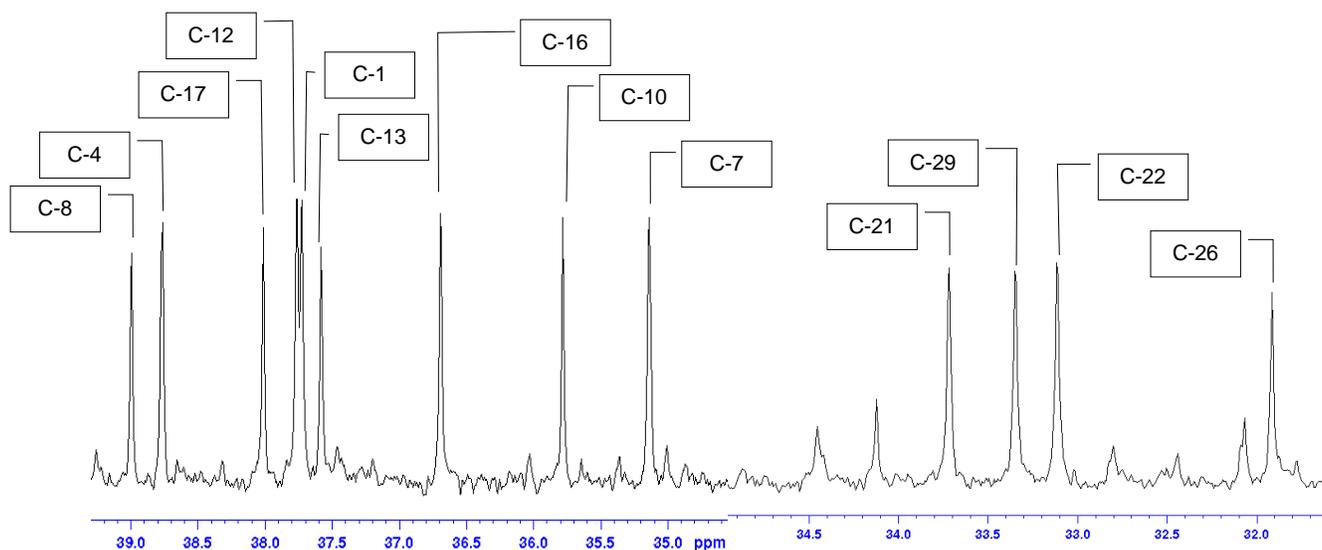


Figura 25 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto B a campo alto (CDCl_3 , 75MHz).

Como se mencionó anteriormente, se realizó una revisión bibliográfica y se compararon los datos obtenidos con núcleos tipo β -amirina y taraxerol por poseer estas estructuras similares, variando solo la posición del doble enlace $-\text{CH}=\text{C}-$, encontrándose que los datos eran similares a los reportados para Taraxerol. Por otro lado, al revisar los antecedentes que se conocen del género *Tachigali*, incluyendo los trabajos realizados en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias, de la Universidad Central de Venezuela, este es el primer reporte de Taraxerol para este género.

Para la identificación del componente minoritario de esta fracción denominado compuesto **B**₁, se tomaron en cuenta las siguientes señales: en 174.3ppm se observa una señal característica de un grupo éster de un ácido graso asignado como C-1 (figura 23), así mismo en 51.35ppm se observa una señal característica de un grupo metoxi asignado al carbono C'-1 (ver anexo 47), lo que hace inferir que se trata de un éster de un ácido graso que en conjunto con señales observada en 34.35, 29.68, 29.58, 29.44, 29.34, 29.25, 29.15 25.03 y 22.67ppm (Figura 26) asignado a carbonos de una cadena alifática y una señal con desplazamiento de 14.01ppm (ver anexo 53) asociada a un metilo terminal de una carbono terminal de una cadena alifática, se determinó que el compuesto **B** se presenta como una mezcla de taraxerol y un éster metílico de ácido graso sin identificar.

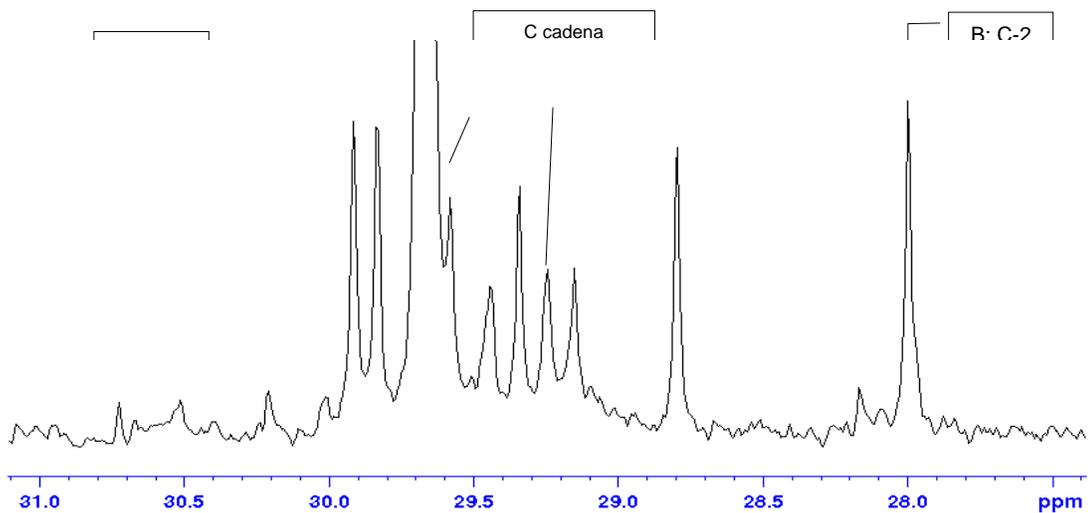


Figura 26 Espectro de RMN ¹³C del compuesto B1 y B a campo alto (CDCl₃, 75MHz).

Tabla 2: Comparación de los datos espectroscópicos para el compuesto **B** con los datos reportados en la literatura.

H/C	Experimental en CDCl ₃			Reportado tomado en CDCl ₃		
	δ_H (ppm) a 300MHz	δ_C (ppm) 75MHz	DEPT	δ_H (ppm) a 400MHz ^[37]	δ_C (ppm) a 100 MHz ^[38]	DEPT
1	0.98 (m), 1.6(m)	37.7	CH ₂	0.99 (m), 1.63 (m)	37.7	CH ₂
2	1.62 (m), 1.64 (m)	27.1	CH ₂	1.64 (m), 1.67 (m)	27.2	CH ₂
3	3.1 (m)	79.1	O-CH	3.20 (m)	79.1	O-CH
4	-	39.0	C	-	39.0	C
5	0.87 (m)	55.7	CH	0.88 (m)	55.5	CH
6	1.60(m) 1.51 (m)	18.8	CH ₂	1.62 (m), 1.53 (m)	18.8	CH ₂
7	1.64 (m) 1.41 (m)	35.1	CH ₂	1.67 (m), 1.45 (m)	35.1	CH ₂
8	-	38.8	C	-	38.8	C
9	0.98 (m)	48.8	CH	0.99 (m)	48.8	CH
10	-	35.8	C	-	35.8	C
11	1.60 (m), 1.47 (m)	17.5	CH ₂	1.63 (m), 1.49 (m)	17.5	CH ₂
12	1.02 (m), 1.34(m)	37.8	CH ₂	1.02 (m), 1.34 (m)	37.7	CH ₂
13	-	37.6	C	-	37.6	C
14	-	158.1	C=	-	158.1	C=
15	5.51 (dd, J= 8,1; 3,3)	116.9	HC=	5.53 (dd, J = 8.2)	116.9	HC=
16	1.92 (m), 1.62 (m)	36.7	CH ₂	1.93 (m), 1.64 (m)	36.7	CH ₂
17	-	38.0	C	-	38.0	C
18	1.43 (m)	49.3	CH	1.46 (m)	49.3	CH
19	2.0 (m), 1.36 (m)	41.3	CH ₂	2.03 (m) 1.36 (m)	41.3	CH ₂
20	-	28.8	C	-	28.8	C
21	-	33.7	CH ₂	1.25 (m)	33.7	CH ₂
22	1.38 (m), 0.99 (m)	33.1	CH ₂	1.38 (m), 1.00 (m)	33.1	CH ₂
23	0.96 (s)	28.0	CH ₃	0.97 (s)	28.0	CH ₃
24	0.90 (s)	15.4	CH ₃	0.92 (s)	15.4	CH ₃

H/C	Experimental en CDCl ₃			Reportado tomado en CDCl ₃		
	δ_H (ppm) a 300MHz	δ_C (ppm) 75MHz	DEPT	δ_H (ppm) a 400MHz [37]	δ_C (ppm) a 100 MHz [38]	DEPT
25	0.78 (s)	15.4	CH ₃	0.80 (s)	15.4	CH ₃
26	0.89 (s)	29.9	CH ₃	0.91 (s)	29.9	CH ₃
27	1.07 (s)	25.8	CH ₃	1.1 (s)	25.9	CH ₃
28	0.80 (s)	29.8	CH ₃	0.82 (s)	29.8	CH ₃
29	0.93 (s)	33.3	CH ₃	0.95 (s)	33.3	CH ₃
30	0.89 (s)	21.3	CH ₃	0.91 (s)	21.3	CH ₃

Tabla 3 Comparación de los datos espectroscópicos para el compuesto **B₁** con datos reportados en la literatura para el ácido hexadecanoico metil ester.

H/C	Experimental en CDCl ₃ a 250MHz			Reportado tomado en CDCl ₃ [39]		
	δ_H (ppm) 300MHz	δ_C (ppm) 75MHz	Dept	δ_H (ppm) 250MHz	δ_C (ppm) 75MHz	DEPT
1'	3.64 (s)	51.3	O-CH	3.64 (s)	51.7	O-C
1	-	174.3	C=O	-	174.6	C=O
n	-	34.3	CH ₂	-	33.9	CH ₂
n	-	31.9	CH ₂	-		
n	-	29.7	CH ₂	-	29.7	CH ₂
n	-	29.6	CH ₂	-	29.6	CH ₂
n	-	29.4	CH ₂	-	29.5	CH ₂
n	-	29.3	CH ₂	-	29.3	CH ₂
n	-	29.2	CH ₂	-	29.3	CH ₂
n	-	29.1	CH ₂	-	29.3	CH ₂
n	1.6 (m)	25.0	CH ₂	1.24 (m)	25.0	CH ₂
3	1.60 (m)	22.8	CH ₂	1.64 (m)	22.5	CH ₂
4	-	14.1	CH ₃	0.9 (t)	14.0	CH ₃

7.2.8 Compuesto C

El **compuesto C** se aisló como un sólido grasoso blanco con una masa de 6mg, soluble en cloroformo y diclorometano. En el análisis realizado por CCF presentó un $R_f=0.4$ al ser desarrollado con una mezcla Hexano-Acetato de etilo (8:2). Este compuesto se observó como una mancha violeta oscura característica de núcleos terpenoidales, al rociar la placa cromatográfica con el agente revelador AS.

Al observar los espectros de RMN del compuesto, se identificaron señales típicas de un núcleo triterpénico. Al comparar los datos espectroscópicos con los reportados en la literatura para diversos esqueletos triterpénicos, se encontró que la estructura en estudio correspondía a la del compuesto β -sitosterol. (Figura 27).

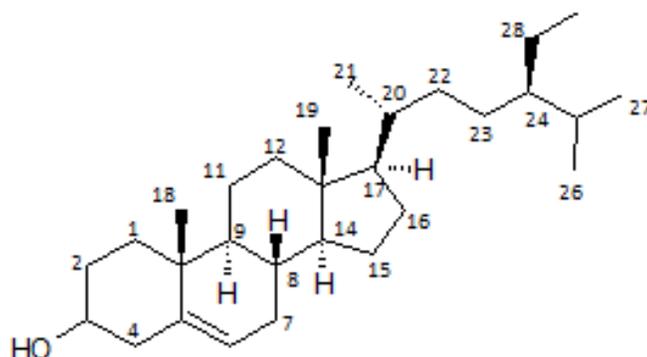


Figura 27 Compuesto C. (β -sitosterol)

Al observar el espectro RMN ^1H (Figura 28) tomado en CDCl_3 , se observaron señales correspondientes a un núcleo triterpénico. Así, a campo alto se observan singletes correspondientes a grupos metilos unidos a un ciclo de una estructura del tipo triterpenoidal.

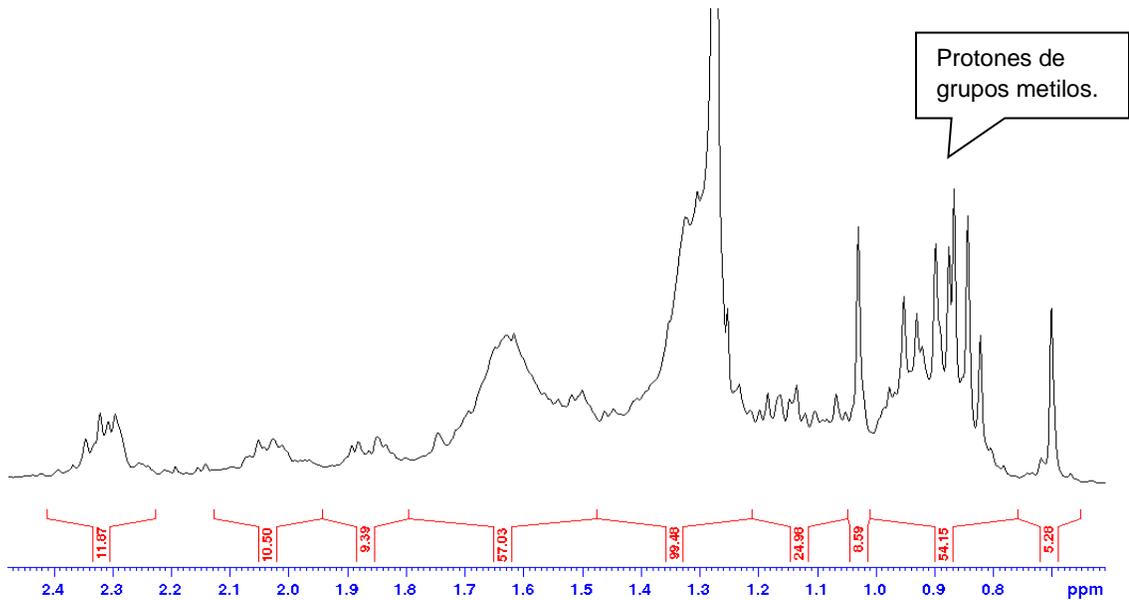


Figura 28 Espectro de RMN ¹H del compuesto C a campo alto (CDCl₃, 300MHz).

Por otro lado, se observa un multiplete centrado en 3,54ppm característico de la sustitución en posición C-3 de un grupo hidroxilo en el núcleo triterpénico, asignado a H-3 (Figura 28). Por otro lado, a campo bajo se observaron un doblete centrado en 5,37ppm con constantes de acoplamiento de 5,4Hz (Figura 29), característico de un metino unido a un enlace olefínico, asignado a H-6.

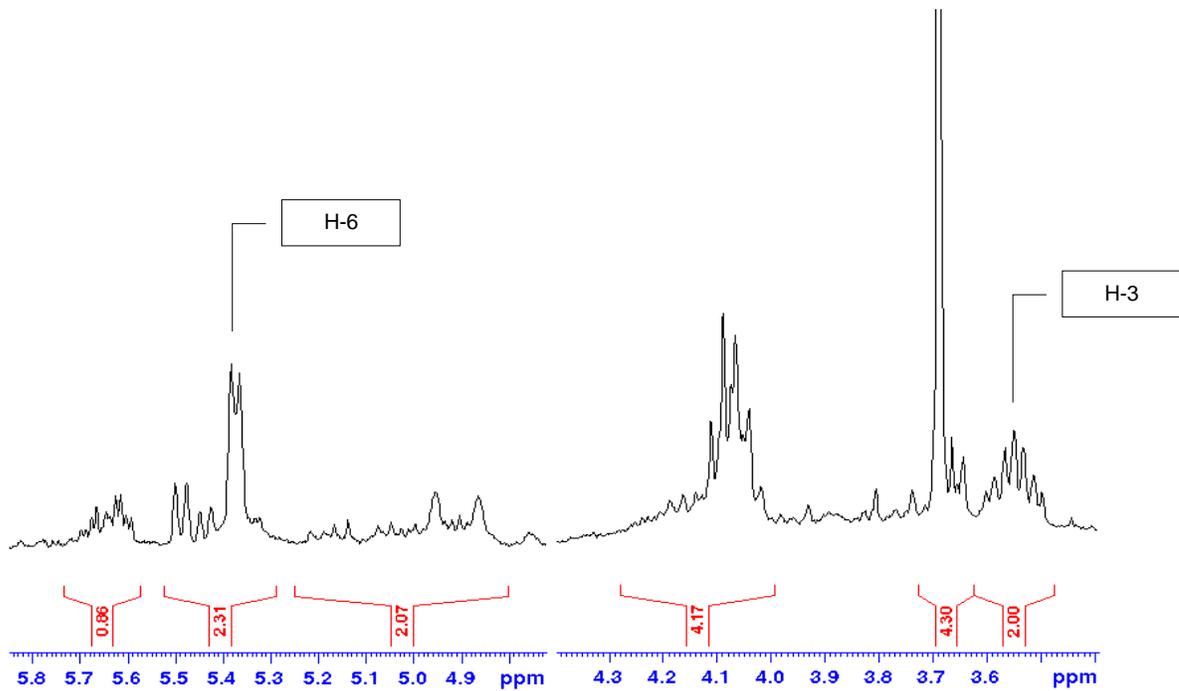


Figura 29 Espectro de RMN ¹H del compuesto C a campo bajo (CDCl₃, 300MHz).

En el espectro de RMN ¹³C (figura 30), se observaron señales asociadas a un núcleo triterpénico con un doble enlace $-\text{CH}=\text{C}-$ en 140,7 y 121,7ppm asignados a los carbonos C-5 y C-6, respectivamente. A un desplazamiento de 71,8ppm se observa una señal característica de un metino unido a un grupo hidroxilo, asignada al carbono C-3 por consideraciones biosintéticas.

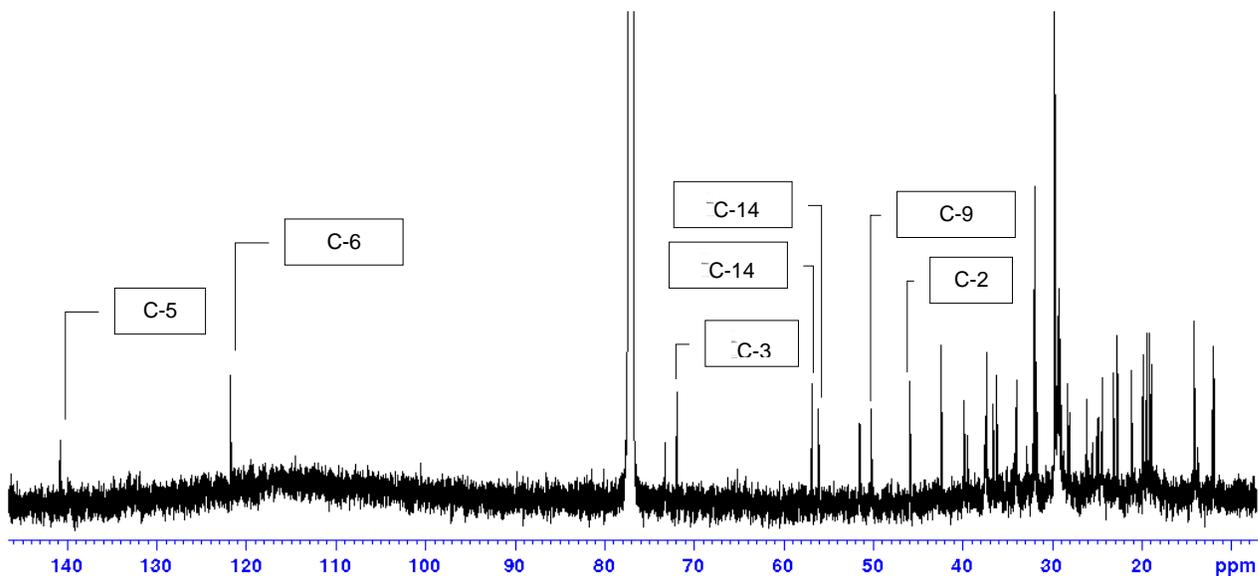


Figura 30 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto C (CDCl_3 , 75MHz).

Adicionalmente, se observan diferentes señales características de carbonos metílicos, metilénicos y metinos, que con ayuda del espectro DEPT-135 fueron identificadas de la siguiente manera: diez señales corresponden a carbonos metilénicos asignado a: C-1, C-2, C-4, C-7, C-11, C-12, C-15, C-16, C-22 y C-23. Siete señales corresponden a carbonos de metilos asignadas a C-18, C-19, C-21, C-26, C-27, C-28, C-29 y siete señales asociadas a metinos asignados a C-8, C-9, C-14 C-17, C-20, C-24 y C-25. Por último, se observan dos señales asignadas a carbonos cuaternarios en C-10, C-13, (Figura 31).

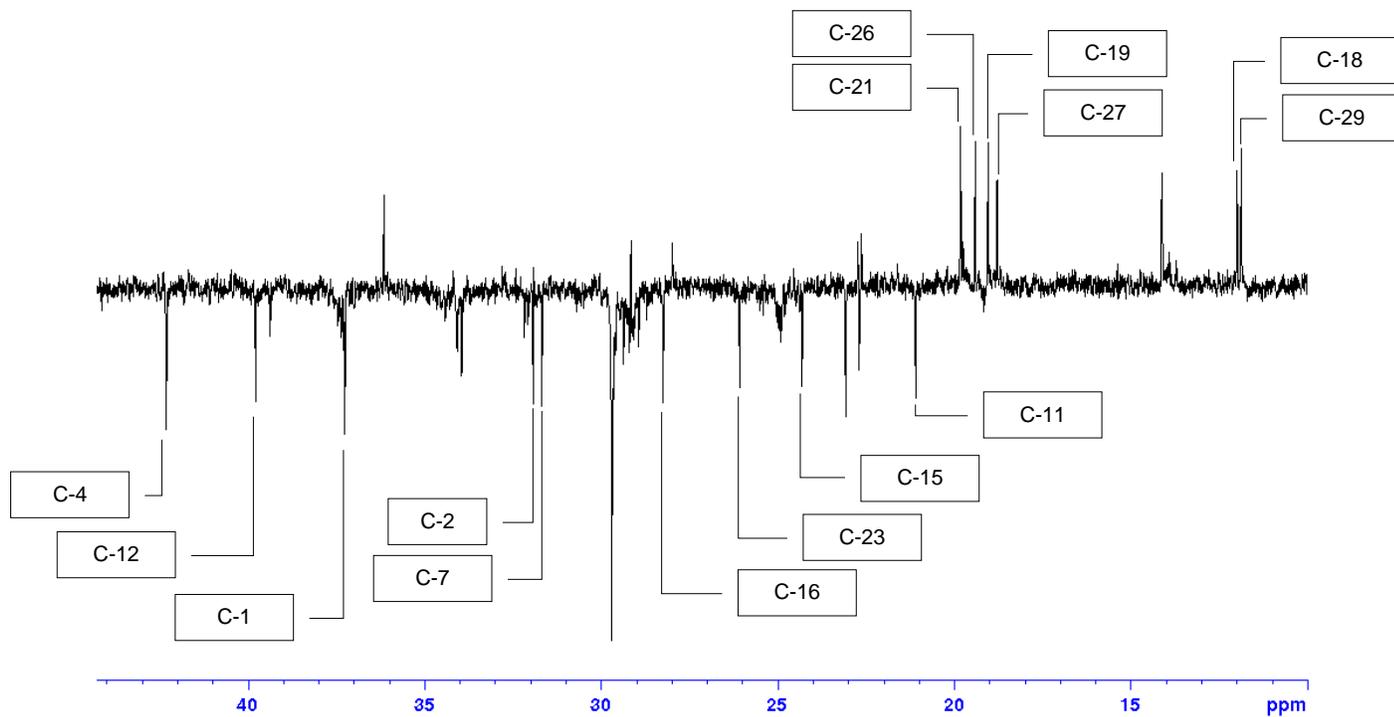


Figura 31 Espectro de DEPT-135 del compuesto A (CDCl_3 , 75MHz).

El compuesto C identificado como β -sitosterol se reporta por primera vez para esta especie.

Tabla 4 Comparación de los datos espectroscópicos para el compuesto **C** con datos reportados en la literatura.

C	Experimental		Reportado [40]	
	δ_c (ppm) 300MHz	DEPT	δ_c (ppm) a 75 MHz	DEPT
1	37,3	CH ₂	37,4	CH ₂
2	32,1*	CH ₂	31,8	CH ₂
3	71,8	CH-O	71,9	CH-O
4	42,3*	CH ₂	42,4	CH ₂
5	140,7	C=	140,9	C=
6	121,7	CH=	121,7	CH=
7	31,7	CH ₂	32,0	CH ₂
8	31,9*	CH	32,0	CH
9	50,1	CH	50,3	CH
10	36,5	C	36,6	C
11	21,1	CH ₂	21,1	CH ₂
12	39,7*	CH ₂	39,8	CH ₂
13	42,3*	C	42,4	C
14	56,8	CH	56,9	CH
15	24,3	CH ₂	24,4	CH ₂
16	28,2	CH ₂	28,3	CH ₂
17	56,1	CH	56,1	CH
18	12,0	CH ₃	12,1	CH ₃
19	19,0	CH ₃	19,1	CH ₃
20	39,4*	CH	39,9	CH
21	20,0	CH ₃	18,9	CH ₃
22	34,1	CH ₂	34,1	CH ₂
23	26,1	CH ₂	26,3	CH ₂
24	45,8	CH	46,6	CH
25	29,2	CH	29,0	CH
26	19,4	CH ₃	19,3	CH ₃

C	Experimental		/	Reportado ^[40]	
	$\bar{\delta}_c$ (ppm) 300MHz	DEPT		$\bar{\delta}_c$ (ppm) a 75 MHz	DEPT
27	18,8	CH ₃		19,0	CH ₃
28	23.2	CH ₂		23,2	CH ₃
29	11,9	CH ₃		12,1	CH ₃

*Son señales intercambiables.

H	Experimental		/	Reportado ^[40]	
	$\bar{\delta}_c$ (ppm) 300MHz			$\bar{\delta}_c$ (ppm) a 300 MHz	
3	3,54 (<i>m</i>)			3.53 (<i>m</i>)	
6	5,37 (<i>dd</i> , 5,4)			5.36 (<i>d</i> , 6,4)	

7.3 Comparación cromatográfica de los compuestos aislados de las especies *Tachigali chrysophylla*, *Tachigali paniculata* con *Tachigali cavipes*.

Como parte de la investigación desarrollada en el Laboratorio de Productos Naturales, se realizó un análisis fitoquímico comparativo entre los compuestos aislados de las especies *Tachigali chrysophylla* (Ch), *Tachigali paniculata* (Pa) y la especie objeto de estudio, *Tachigali cavipes* (Cav), utilizando diferentes sistemas de solventes y usando como agente revelador anisaldehído, con la finalidad de observar las similitudes de compuesto entre estas tres especies.

En la Figura 32, se observa a un Rf de 0.56 la comparación del perfil cromatográfico del extracto de *Tachigali cavipes* (Cav), con la mezcla estigmasterol/ β -sitosterol, aislada de la especie *Tachigali chrysophylla* ^[40] (esta mezcla de esteroides fue aislada también de la especie *Tachigali paniculata* ^[41]), lo cual nos permite inferir que la especie *Tachigali cavipes* presenta esta mezcla de terpenos.

Por otro lado, en la figura 33 se observa a un Rf de 0.44 la comparación de los factores de retención de una mancha de color violeta presente en el extracto de *Tachigali cavipes* (Cav), coincidente con el Rf observado para el compuesto Lupenona, aislado de las especies antes mencionadas ^[40]^[41], indicando así la presencia de este terpeno en el extracto de la planta objeto de estudio, *T. cavipes*.

El análisis anterior permite inferir que las tres especies *Tachigali* presentan un perfil cromatográfico similar, con la presencia de triterpenos y esteroides que pueden servir de marcadores quimiotaxonómicos para el género.

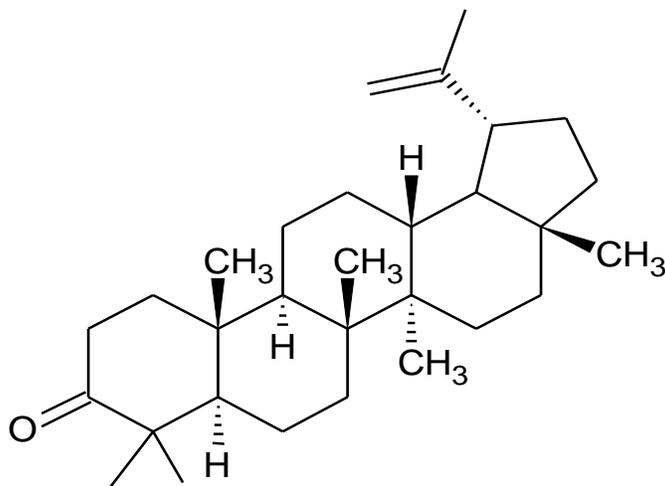


Figura 32 Estructura de la Lupenona.

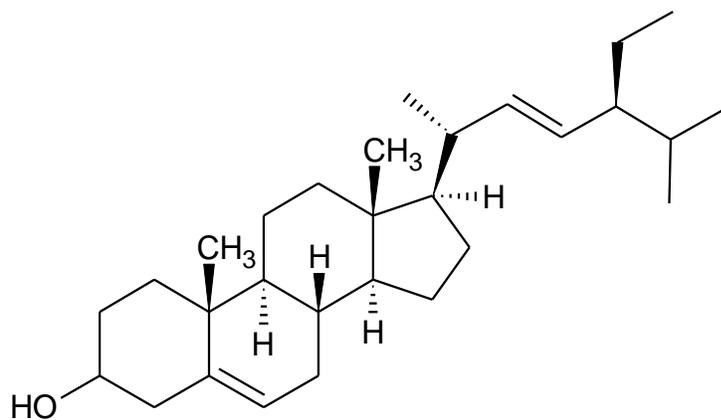


Figura 33 Estructura del Stigmasterol.

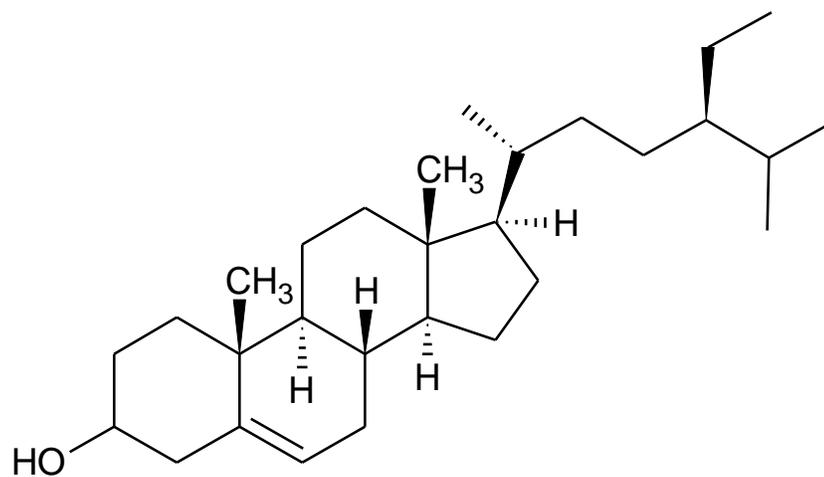


Figura 34 Estructura del β -sitosterol.

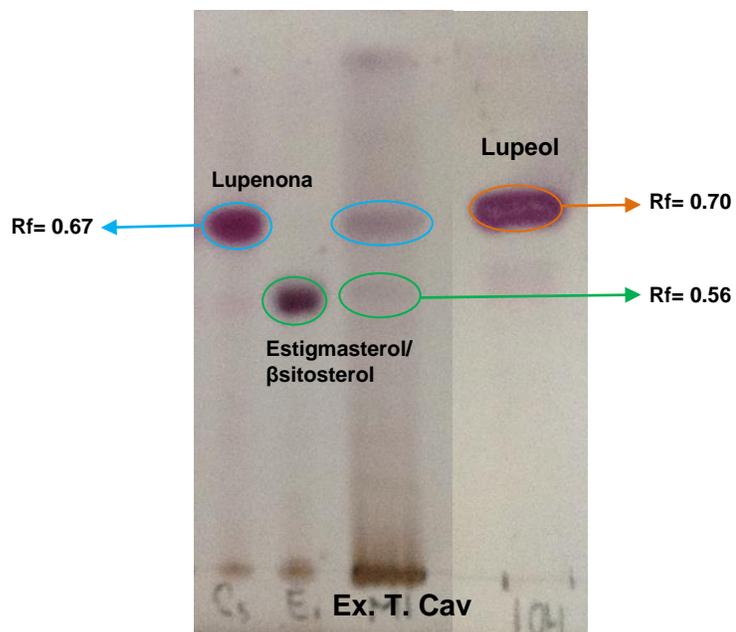


Figura 35 CCF sistema de solvente Tolueno/AcOEt 75:25, agente revelador AS.

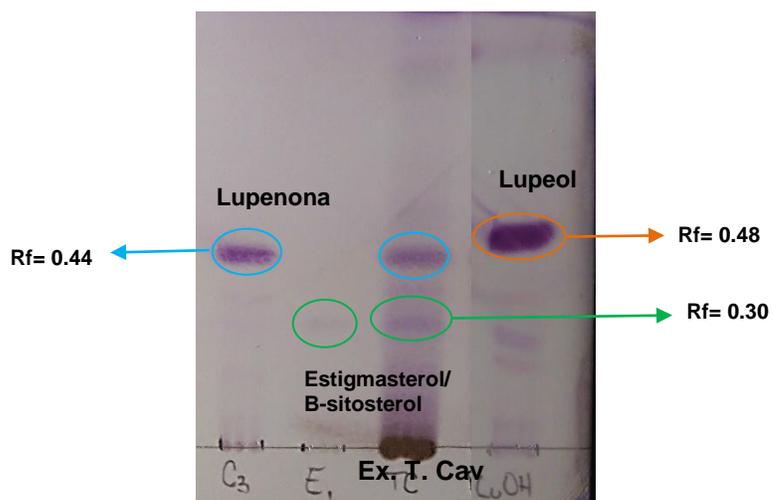


Figura 36 CCF comparativo, sistema de solvente Hexano/acetato/ácido fórmico 75:25:1, agente revelador AS.

8 CONCLUSIONES

- Del estudio fitoquímico realizado a las hojas y ramas de la especie *Tachigali cavipes* se lograron purificar ocho fracciones de los cuales se lograron aislar tres compuestos del tipo triterpénico.
- De la fracción RTcM1(41-59), purificada a partir del extracto RTcBuOH, se aislaron 8mg de un compuesto cristalino color blanco, soluble en cloroformo y diclorometano identificado como Friedelina
- De la fracción RTcM1(70-85) se aislaron 8mg de un sólido blanco, soluble en cloroformo y diclorometano, resultando ser una mezcla de compuestos conformada por Taraxerol (mayoritario) y un éster metílico de ácido graso cuya cadena alifática no se logró determinar.
- De la fracción RTcM1(70-85) se aislaron 6mg de un sólido oleoso, soluble en cloroformo y diclorometano, identificado como β -sitosterol.
- La comparación del extracto metanólico de la especie *T. cavipes*, con los compuestos aislados en las especies *Tachigali chrysophylla* y *Tachigali paniculata* (Pa) permitió inferir la posible presencia del compuesto Lupenona en el extracto antes mencionado.

9 RECOMENDACIONES

- Realizar otros métodos cromatográficos para la separación de los metabolitos secundarios presentes en esta especie, como cromatografía por exclusión por tamaño o cromatografía en fase inversa.
- Continuar con el estudio fitoquímico de la especie *Tachigali cavipes*, con la finalidad de aislar más metabolitos secundarios, ya que esta especie no ha sido estudiada con anterioridad a este trabajo de investigación.
- Proponer una metodología diferente a la planteada para lograr separar con eficiencias las grasas presentes, las cuales dificultaron el aislamiento de los metabolitos secundarios.

10 BIBLIOGRAFÍA

1. T. Kaufman, y A. Vila. 2011. Nueva Simbiosis entre la química orgánica y la química biológica. *Ciencia Hoy*, v.21, N°124: 21-26.
2. A. Gutiérrez y A. Estévez. 2009. Relevancia de los Productos Naturales En El Descubrimiento De Nuevos Fármacos En El S. XXI. *Real academia de ciencias*, v.103, N°2: 409-419.
3. J. Fresquet. 2000. Plantas y medicinas. *Revista de Fitoterapia*. v.1:49-57
4. Villa N., Pacheco Y., Beatriz E., Franco J., Monteserrat I., Trinidad O. y Ruiz L. 2011. Biotécnica de plantas medicinales: generando fármacos de un futuro tornado presente. *Temas de Ciencias y tecnología*, v.15, N°43; 13-20.
5. D. Marcano y M. Hasegawa, *Fitoquímica Orgánica*. Universidad Central de Venezuela Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico Caracas, 2002.
6. Deanna Marcano y Masahisa Hasegawa. *Fitoquímica Orgánica*. Universidad Central de Venezuela Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico Caracas, 2002.
7. E. Ulibarri. 2008. Los géneros de Caesalpinioideae (Leguminosae) presentes en Sudamérica. *Darwiniana*, v.46. pág. 69-163.
8. H. Achenbach, M. stocker y M. Constela. 1988. Flavonoid and other constituents of *Bauhinia manca*. *Phytochemistry*, v. 27: 1835-1941.

9. S. Talavera, C. Aedo, S. Castroviejo, C. Romero y L. Sáez, F.J. Salgueiro & M. Velayos. Leguminosae.
10. F. Juárez. 2001. Fabaceae Lidl. Subfam. Caesalpinioideae. Aportes Botánicos de Salta, v.6. nº10: 1-10.
11. O. Allen y E. Allen, The Leguminosae, A Source Book of Characteristics, Uses, and Nodulation. The University of Wisconsin Press, Madison, USA. 1981.
12. Kuklinsky, C. (2000). Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Editorial Omega. Barcelona. España.
13. L. Atencio, R. Colmenares, M. Ramírez-Villalobos y D. Marcano. 2003. tratamientos pregerminativos en acacia San Francisco (*Peltophorum pterocarpum*) Fabaceae. Rev. Facultad de agronomía, v.20, N°1.
14. C. Mendes, F. Casarin, A. Ohland, A. Flach, L. Mendonça, Rosiane B. Nicoloso y N. Fernandes. 2012. Efeitos das condições ambientais sobre o teor e variabilidade dos óleos voláteis de *Dalbergia frutescens* (Vell.) Britton (Fabaceae). Química Nova, v.32, nº9.
15. B. Barragán, J. Peralta, R. González y J. Karchesy. 2004. Neocandenatone, an isoflavan-cinnamylphenol quinone methide pigment from *Dalbergia congestiflora*. Phytochemistry, v.65; 925-928.
16. Vasudeva N., Vats M., Sharma S.K. y Sardana S. 2009. Chemistry and biological activities of the genus *Dalbergia* – a review. Phcog. v.3; 307–319.

17. P. Mutai, M. Heydenreich, G. Thoithi, G. Mugumbate, K. Chibale y A. Yenesew. 2013. 3-Hydroxyisoflavanones from the stem bark of *Dalbergia melanoxylo*n: Isolation, antimycobacterial evaluation and molecular docking studies. *Phytochemistry Letters*, v.6;. 671-675.
18. S. Cheenpracha, T. Ritthiwigrom, C. Karalai, y S. Laphookhieo. 2012. Candenatenins G–K, phenolic compounds from *Dalbergia candenatensis* heartwook. *Phytochemistry Letters* v.5;. 708–712.
19. N. Beldjoudi, L. Mambu, M. Labaed, P. Grellier, D. Ramanitrahasimbola, P. Rasoanaivo, M. Martin, y F. Frappier. 2003. Flavonoids from *Dalbergia louvelii* and Their Antiplasmodial Activity. *J. Nat. Prod* v.66; 1447-1450.
20. S. Chan, Y. Chang y S. Kuo. 1997. Neoflavonoids from *Dalbergia odorifera*. *Phytochemistry*, v.46, n^o5; 947- 949.
21. H. Wanga, W. Mei, Y. Zeng, W. Zuo, Z. Guo, L. Chen, H. Zhong, y H. Dai. 2014. Phenolic compounds from *Dalbergia odorifera*. *Phytochemistry Letters* v.9; 168–173.
22. R. Liu, Q. Wang, H. Guoa, L. Lia, K. Bi y D. Guoa. 2005. Simultaneous determination of 10 major flavonoids in *Dalbergia odorifera* by high performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.39; 469–476.
23. C. Itoa, M. Itoigawab, T. Kanematsua, N. Ruangrungsic, T. Mukainakad, H. Tokudad, H. Nishinod, H. Furukawaa. 2003. Isoflavonoids from *Dalbergia olivari*. *Phytochemistry*, v.64; 1265–1268.

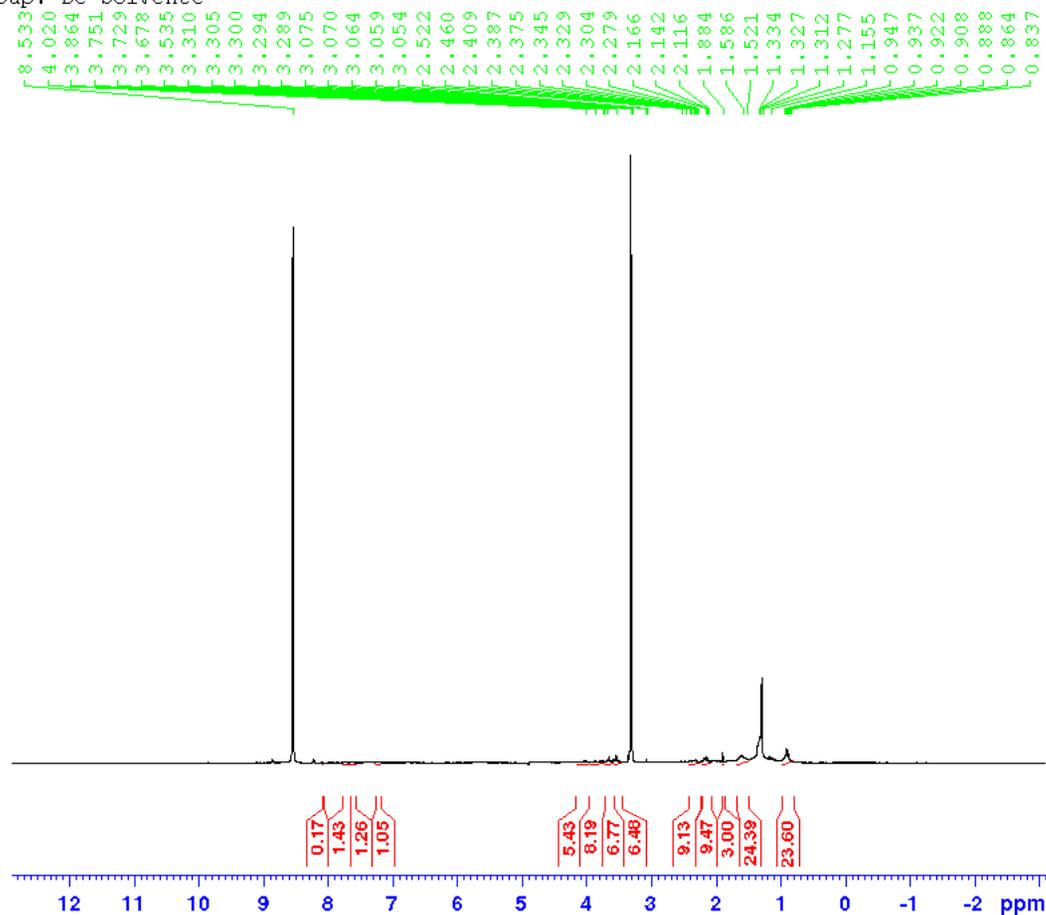
24. S. Pluempanupata, N. Kumrungseeb, W. Pluempanupatc, K. Ngamkitpinyoc, W. Chavasiria, V. Bullangpotib y O. Kould, 2012. Laboratory evaluation of *Dalbergia oliveri* (Fabaceae: Fabales) extracts and isolated isoflavonoids on *Aedes aegypti* mosquitoes. *Industrial Crops and Products*.
25. U. Songsiang, S. Wanich, S. Pitchuanchom, S. Netsopa, K. Uanporn y C. Yenjai. 2009. Bioactive constituents from the stems of *Dalbergia parviflora*. *Fitoterapia*, v.80; 427–431.
26. U. Songsiang, C. Hahnvajanawong y C. Yenjai. 2011. Cytotoxicity of chemical constituents from the stems of *Dalbergia parviflora*. *Fitoterapia*, v.82; 1169-1174.
27. P. Kumara , P. Kushwahab, V. Khedgikarb, J. Gautamb, D. Choudharyb, D. Singhb, R. Trivedib, y R. Maurya. 2014. Neoflavonoids as potential osteogenic agents from *Dalbergia sissoo* heartwood. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*.
28. S. Faraga, A. Ahmeda, K. Terashima. 2001. Isoflavonoid glycosides from *Dalbergia sissoo*. *Phytochemistry*, v.57;. 1263–1268.
29. Werff H. 2008. A Synopsis Of The Genus *Tachigali* (Leguminosae: Caesalpinioideae) In Northern South America. *Ann. Missouri Bot. Gard.* V.95: 618–660.
30. Cioffi G., D'Auria M., Braca A., Mendez J., Castillo A. Morelli I., Tommasi N. 2002. Antioxidant and Free-Radical Scavenging Activity of Constituents of the Leaves of *Tachigalia paniculata*. *J. Nat. Prod.* V.65; 1526-1529.

31. Alvino Victor TEG. 2016. Aislamiento, purificación y caracterización de metabolitos secundarios de la especie *Tachigali paniculata* aubl. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias, Escuela de Química.
32. L. Lôbo, K. Ferreira, M. Arruda, M. Silva, A. Arruda, A. Müller, G. Arruda y A. Santos. 2008. Potencial alelopático de catequinas de *tachigali myrmecophyla* (leguminosae). Quim. Nova, V. 31, No. 3; 493-497.
33. Souza F. y Lôbo L. 2005. Atividade alelopática em folhas de *Tachigali myrmecophyla*. Planta Daninha, v. 23, n. 4; 557-564.
34. Berónica Camaripano y Aníbal castillo. 2003. Catálogo de espermatófitas del bosque estacionalmente inundable del río sipapo, estado amazonas, Venezuela. Acta bot. Venez. V.26 n.2.
35. H. T. Khor., (1979). "Removal of chlorophyll pigments from plant neutral lipids". Journal of Chromatography. V.179; 225-226.
36. Ciangherotti, C., Buitrago, D., Morales, A. Estudio de los componentes químicos de las hojas y tallos de *Cestrum buxifolium* Kunth. Revista de la facultad de farmacia V.46, (1) 2004.
37. Sunday O., Ezekiel T., Misbaudeen A. y Olajumoke T. Characterisation and Identification of Taraxerol and Taraxer-14-en-3-one from *Jatropha tanjorensis* (Ellis and Saroja) Leaves. A: phys. sci. v.58 (2015) 46-50.
38. Yen C., Keng C., Hasnah O., Ibrahim E., y Mohammad Z. Chemical Constituents and Biological Activities of *Strobilanthes crispus* L. Rec. Nat. Prod. 7:1 (2013) 59-64.

- 39.** Ajoku G., Okwute S y Okogun J. Isolation of Hexadecanoic Acid Methyl Ester and 1,12-Ethanedicarboxylic, Acid-1-Hydroxy-1, 1-Dimethyl Ester from the calyx of Green Hibiscus *Sabdariffa* (Linn) (2015). *Natural Products Chemistry & Research*, 3(2):1-5.
- 40.** Salazar Sofia TEG. 2017. Aislamiento, purificación y caracterización de metabolitos secundarios de la especie *Tachigali chrysophylla*. Universidad Central de Venezuela. Facultad de ciencias, Escuela de Química.
- 41.** Alvino Victor TEG. 2016. Aislamiento, purificación y caracterización de metabolitos secundarios de la especie *Tachigali paniculata* aubl. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias, Escuela de Química.

11 ANEXOS

UCV / M. Rodriguez / RHF0 / MeOD / Protones
 Sup. De Solvente



Current Data Parameters
 NAME ucvmr-rhf0
 EXPNO 11
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20170613
 Time 8.36
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13
 PULPROG noesygprid
 ID 32768
 SOLVENT MeOD
 NS 779
 DS 4
 SWH 4801.537 Hz
 FIDRES 0.146531 Hz
 AQ 3.4122410 sec
 RG 200.12
 DW 104.133 usec
 DE 12.98 usec
 TE 296.5 K
 D1 2.00000000 sec
 D8 0.01000000 sec
 D12 0.00002000 sec
 D16 0.00002000 sec
 TD0 3
 ZGOFINS

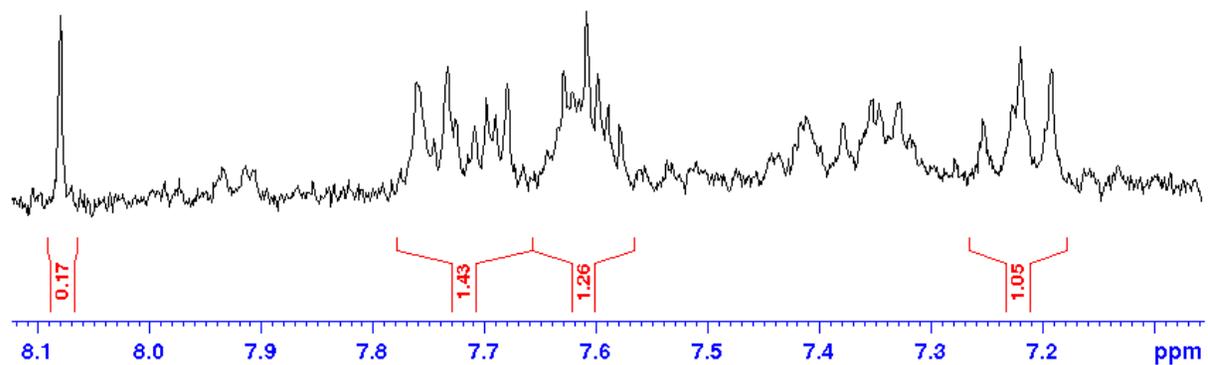
----- CHANNEL f1 -----
 SF01 300.2014753 MHz
 NUC1 1H
 P0 11.00 usec
 P1 11.00 usec
 PLW1 30.00000000 W
 PLW9 0.00014520 W

----- GRADIENT CHANNEL -----
 GFNAM[1] SMSQ10.100
 GFNAM[2] SMSQ10.100
 GF21 50.00 %
 GF22 -10.00 %
 P16 1000.00 usec

F2 - Processing parameters
 SI 16384
 SF 300.2000087 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 FC 1.00

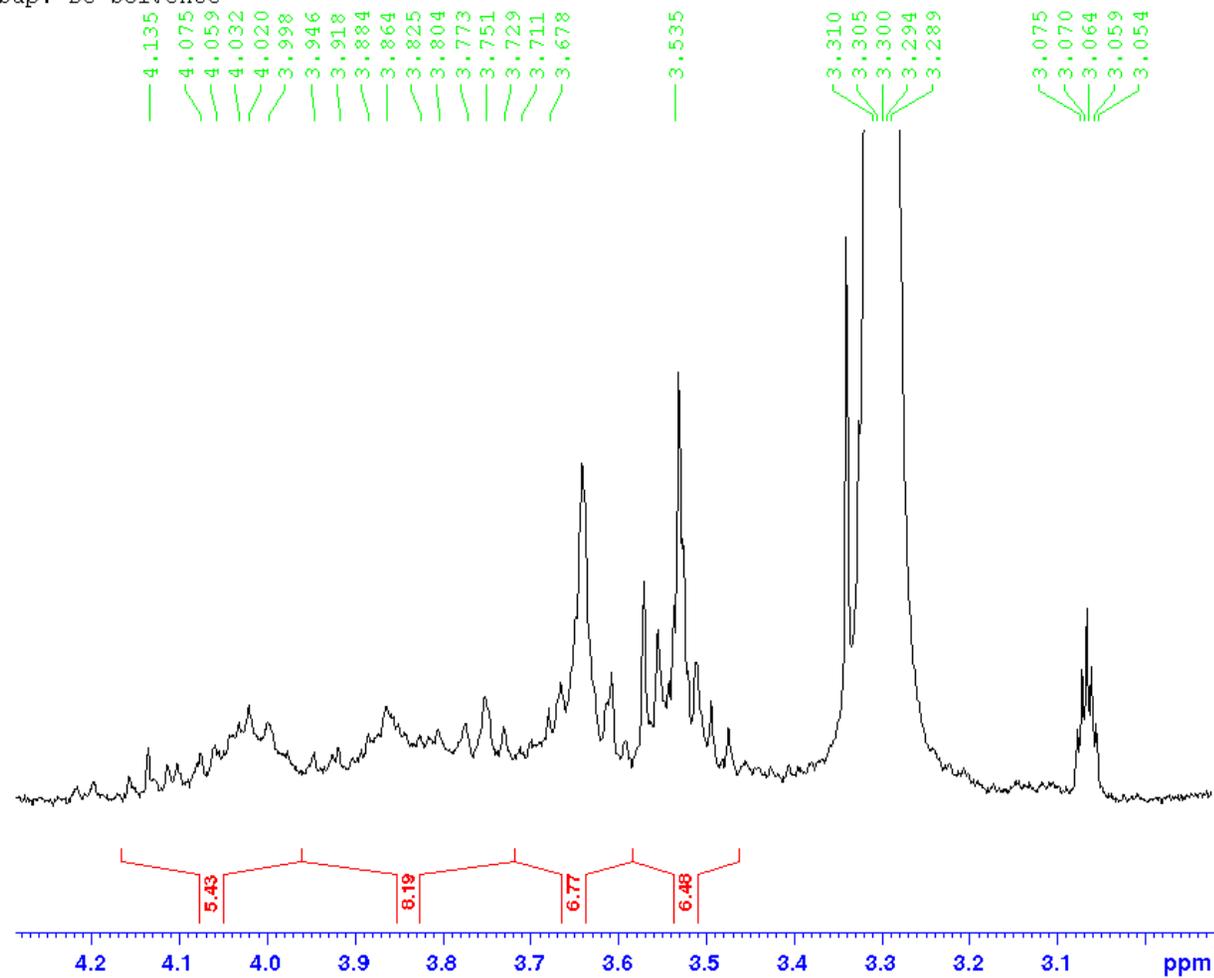
Anexo 1 Espectro de RMN ¹H del compuesto 1' (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF0 / MeOD / Protones
Sup. De Solvente



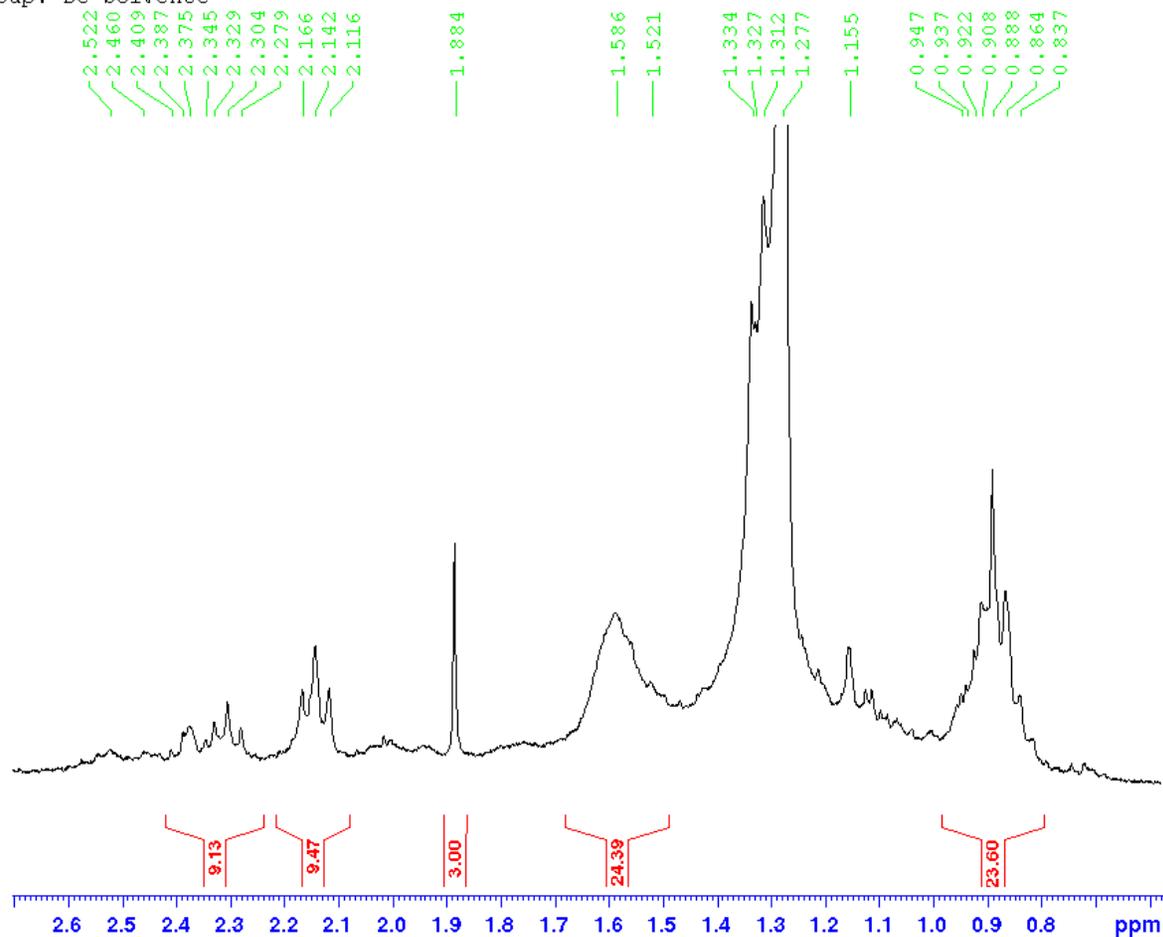
Anexo 2 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto I' entre 8ppm y 7ppm (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF0 / MeOD / Protones
Sup. De Solvente



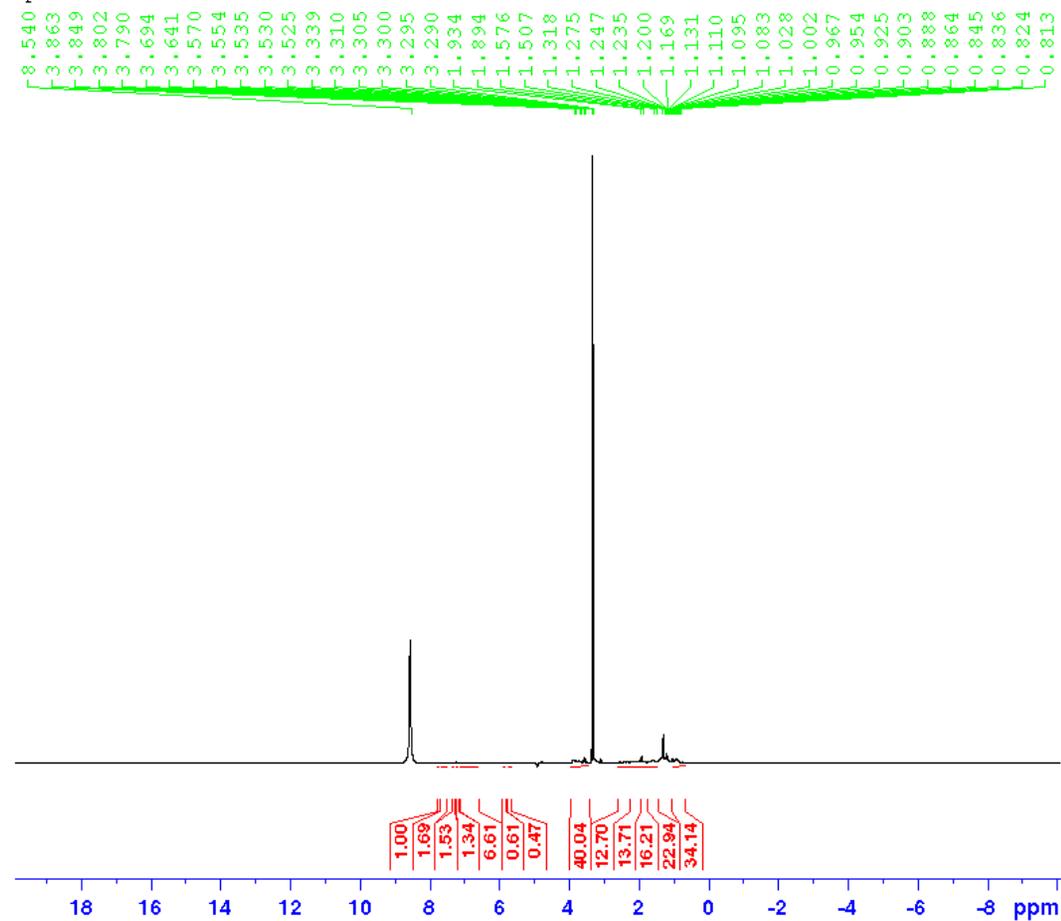
Anexo 3 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto I' entre 3ppm y 4ppm (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF0 / MeOD / Protones
Sup. De Solvente



Anexo 4 Ampliación del Espectro de RMN ¹H del compuesto 1' entre 0.7ppm y 3ppm (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF1 / MeOD / Protones
Sup. de ste.



Current Data Parameters
NAME ucvmr-rhf1
EXFNO 12
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20170619
Time 16.37
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP 1H/13
PULPROG noesygpr1d
TD 32768
SOLVENT MeOD
NS 8192
DS 4
SWH 9009.009 Hz
FIDRES 0.274933 Hz
AQ 1.8186240 sec
RG 200.12
DW 55.500 usec
DE 10.50 usec
TE 298.0 K
D1 2.00000000 sec
D8 0.01000000 sec
D12 0.00002000 sec
D16 0.00020000 sec
TD0 8
ZGOFINS

----- CHANNEL f1 -----
SF01 300.2014720 MHz
NUC1 1H
P0 11.00 usec
P1 11.00 usec
PLW1 30.00000000 W
PLW9 0.00014520 W
----- GRADIEN CHANNEL -----
GPNAM[1] SMSQ10.100
GPNAM[2] SMSQ10.100
GP21 50.00 %
GP22 -10.00 %
P16 1000.00 usec

F2 - Processing parameters
SI 16384
SF 300.2000085 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

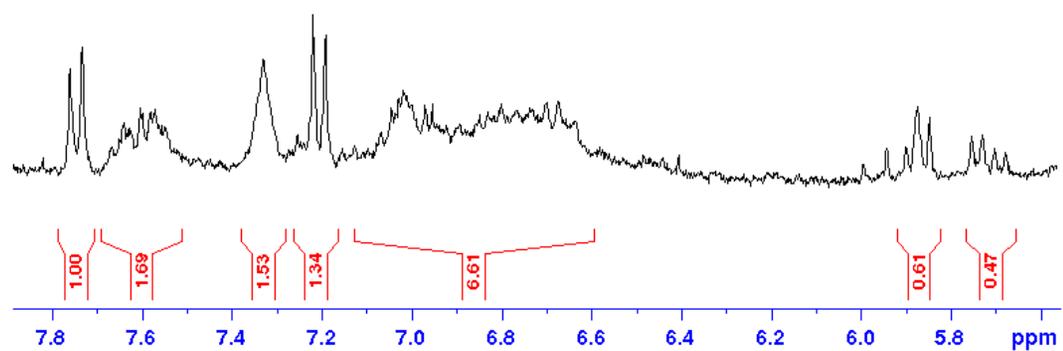
Anexo 5 Espectro de RMN ¹H del compuesto I (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF1 / MeOD / Protones
Sup. de ste.

7.759
7.732
7.640
7.625
7.603
7.580
7.570

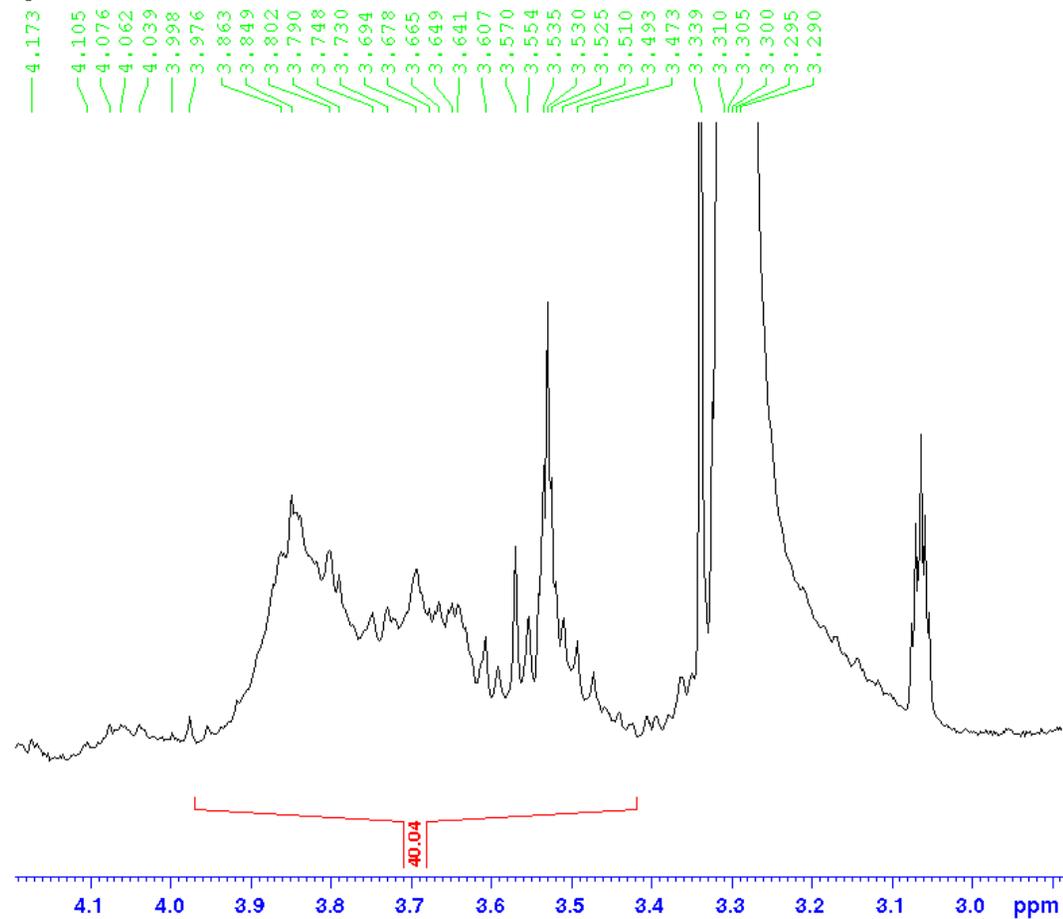
7.330
7.252
7.218
7.190
7.043
7.016
6.968
6.951
6.891
6.847
6.798
6.764
6.734
6.697
6.671

5.939
5.896
5.870
5.843
5.748
5.725
5.697
5.674



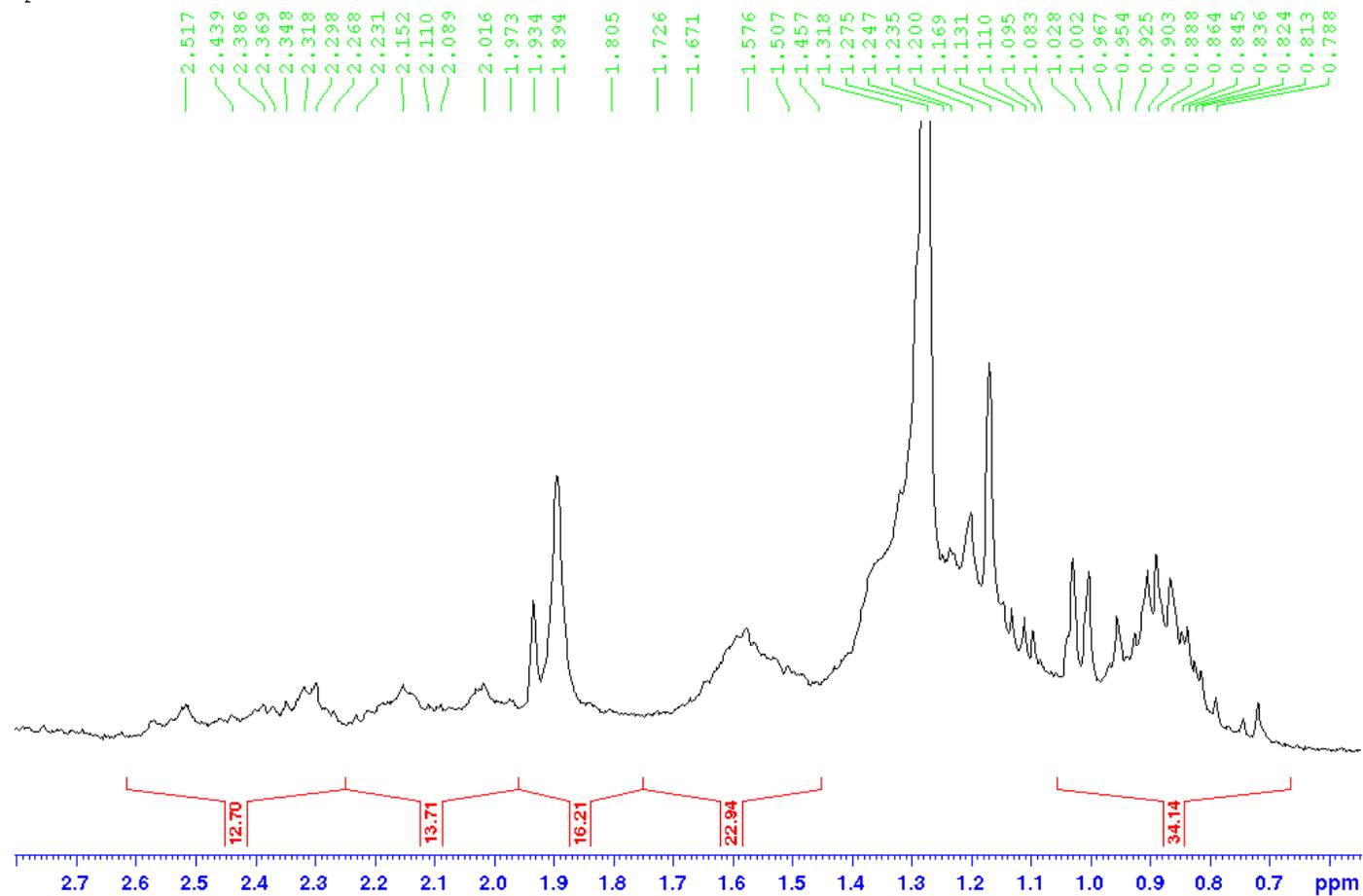
Anexo 6 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto I entre 5.6ppm y 7.8ppm (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF1 / MeOD / Protones
Sup. de ste.



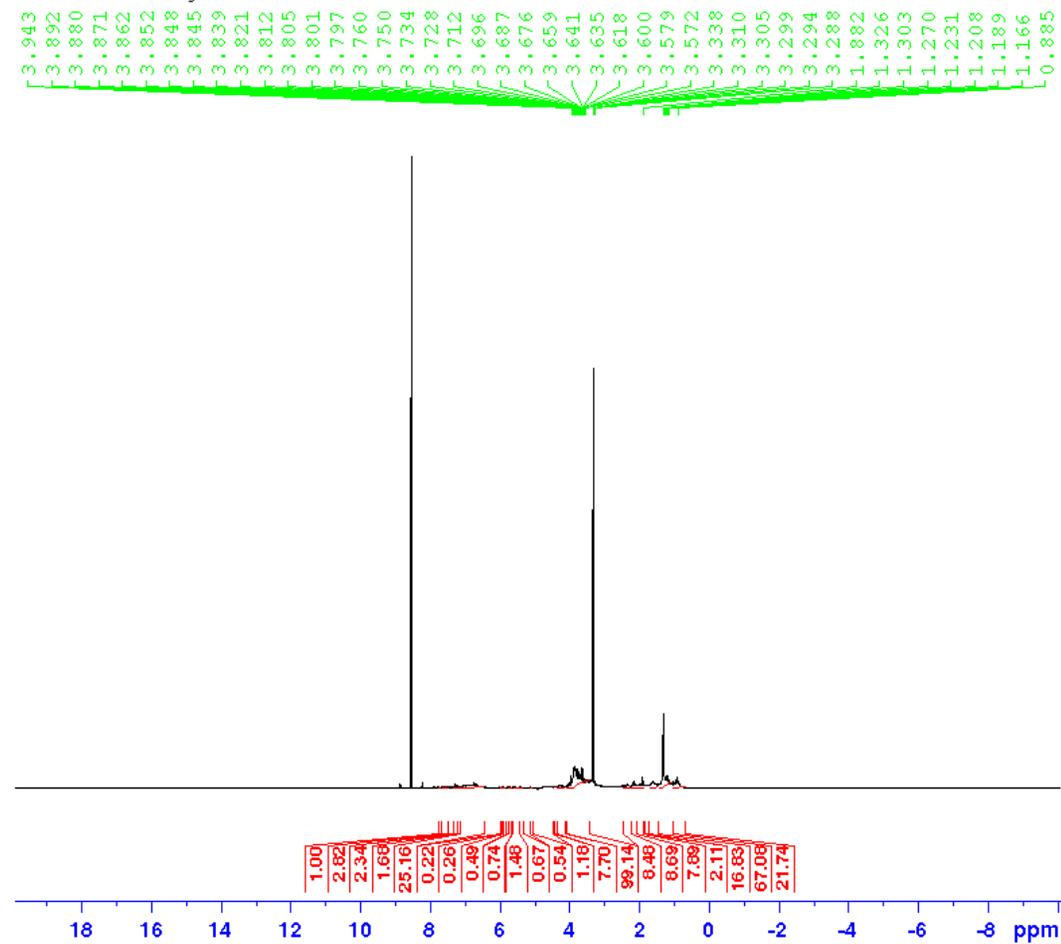
Anexo 7 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto I entre 3ppm y 4.2ppm (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF1 / MeOD / Protones
Sup. de ste.



Anexo 8 Ampliación del Espectro de RMN ¹H del compuesto I entre 0.7ppm y 2.8ppm (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF2 / MeOD / Protones



Current Data Parameters
 NAME ucvmr-rhf2
 EXPNO 11
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20170622
 Time 16.15
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13
 PULPROG noesygprid
 ID 32768
 SOLVENT MeOD
 NS 8192
 DS 4
 SWH 9009.009 Hz
 FIDRES 0.274933 Hz
 AQ 1.8186240 sec
 RG 200.12
 DW 55.500 usec
 DE 10.50 usec
 IE 297.4 K
 D1 2.00000000 sec
 D8 0.01000000 sec
 D12 0.00020000 sec
 D16 0.00020000 sec
 ID0 8
 ZGOFINS

----- CHANNEL f1 -----
 SF01 300.2014773 MHz
 NUC1 1H
 P0 11.00 usec
 P1 11.00 usec
 PLW1 30.00000000 W
 PLW9 0.00014520 W

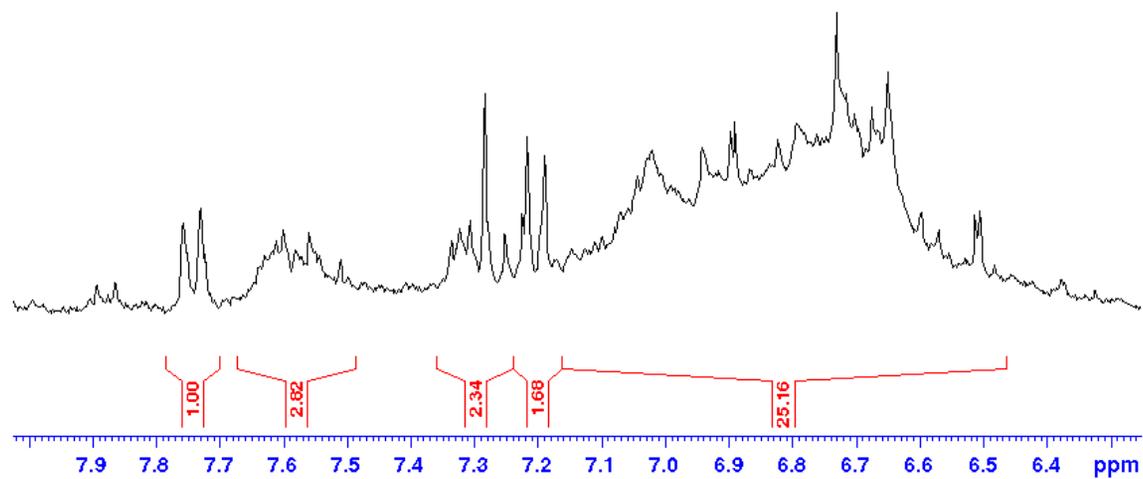
----- GRADIENT CHANNEL -----
 GPNAM[1] SMSQ10.100
 GPNAM[2] SMSQ10.100
 GP21 50.00 %
 GP22 -10.00 %
 P16 1000.00 usec

F2 - Processing parameters
 SI 16384
 SF 300.2000088 MHz
 WDW no
 SSB 0
 LB 0 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Anexo 9 Espectro de RMN ^1H del compuesto II (MeOD, 300MHz).

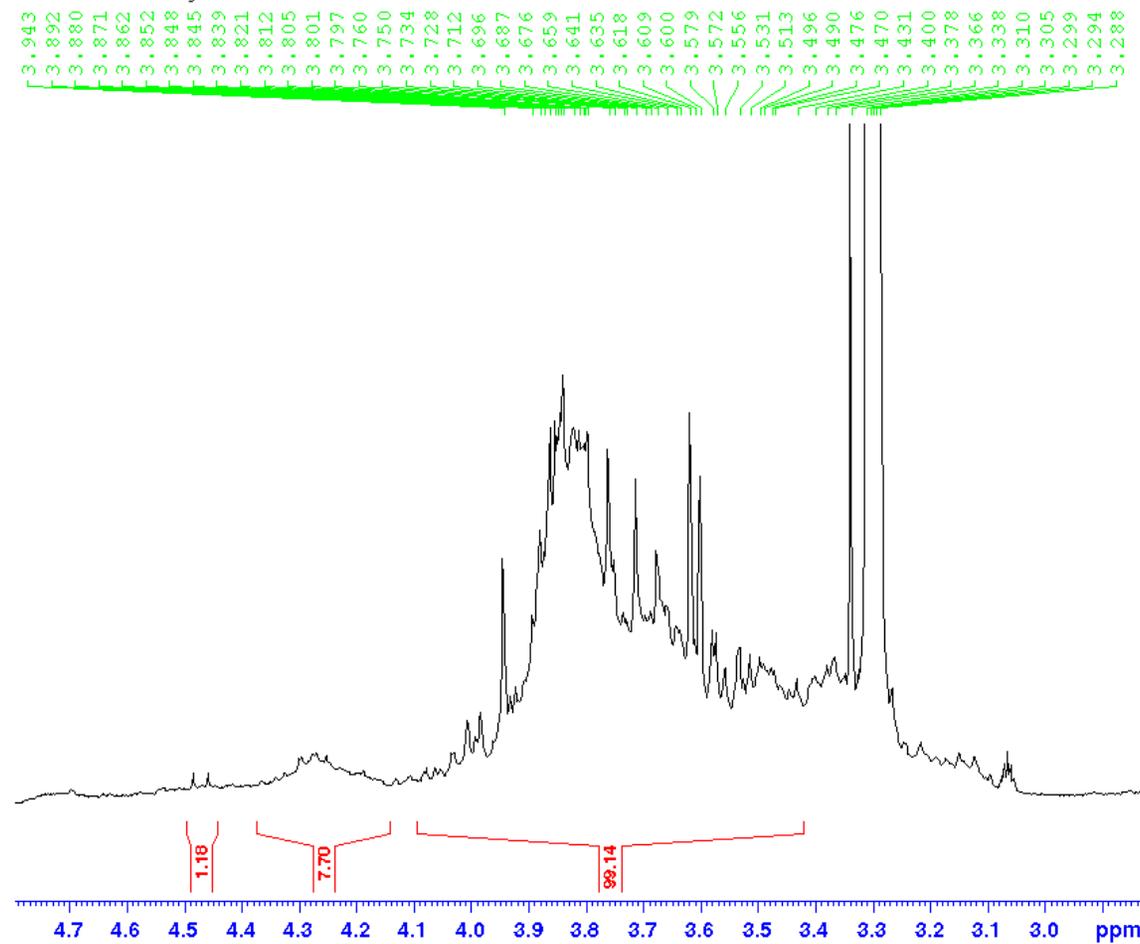
UCV / M. Rodriguez / RHF2 / MeOD / Protones

7.758
7.731
7.611
7.600
7.559
7.536
7.323
7.306
7.284
7.251
7.224
7.217
7.189
7.147
7.126
7.110
7.099
7.079
7.070
7.043
7.020
6.991
6.941
6.915
6.896
6.889
6.867
6.822
6.792
6.761
6.746
6.730
6.715
6.702
6.674
6.649
6.597
6.569
6.512
6.504

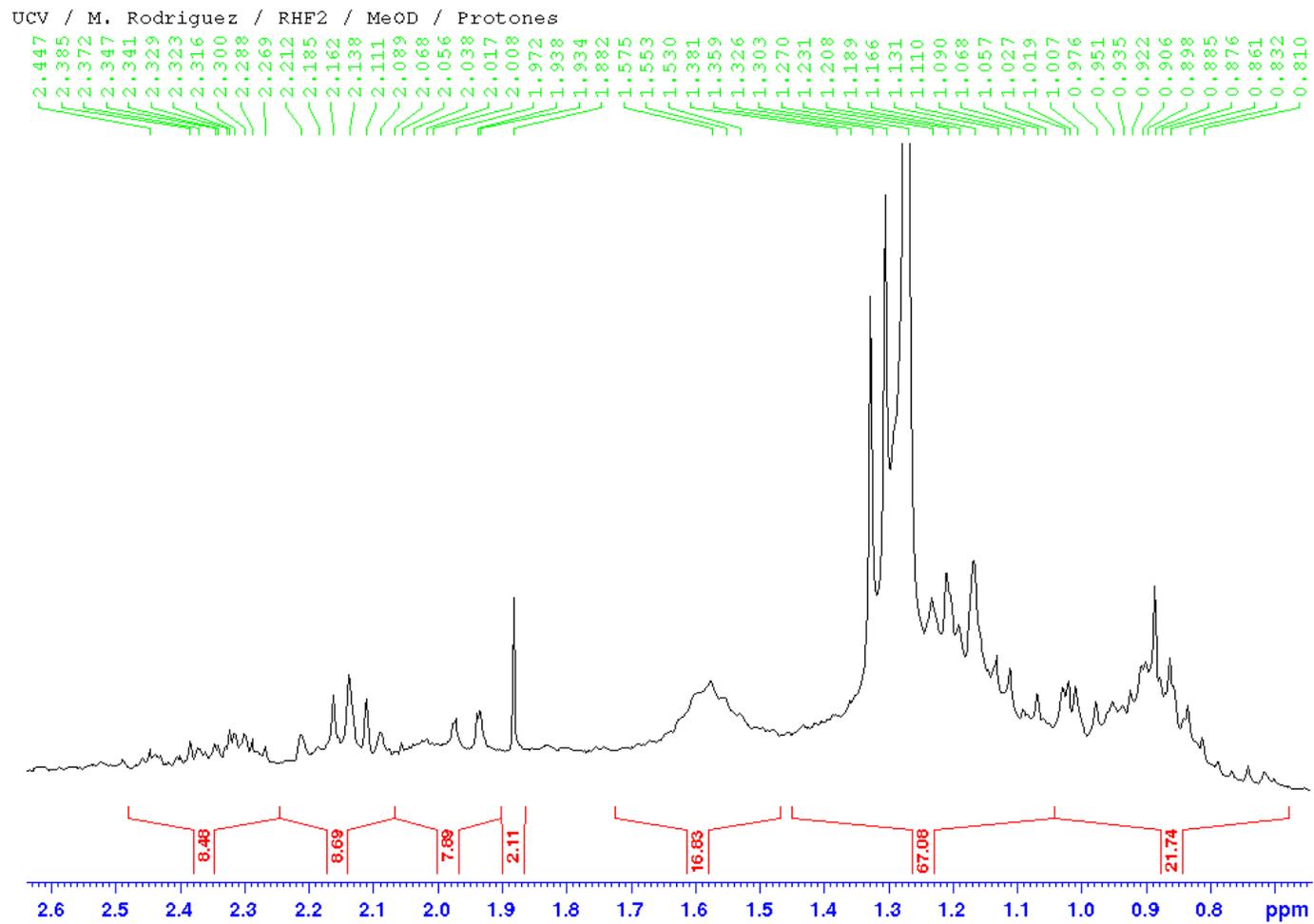


Anexo 10 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto II entre 6.3ppm y 8ppm (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF2 / MeOD / Protones

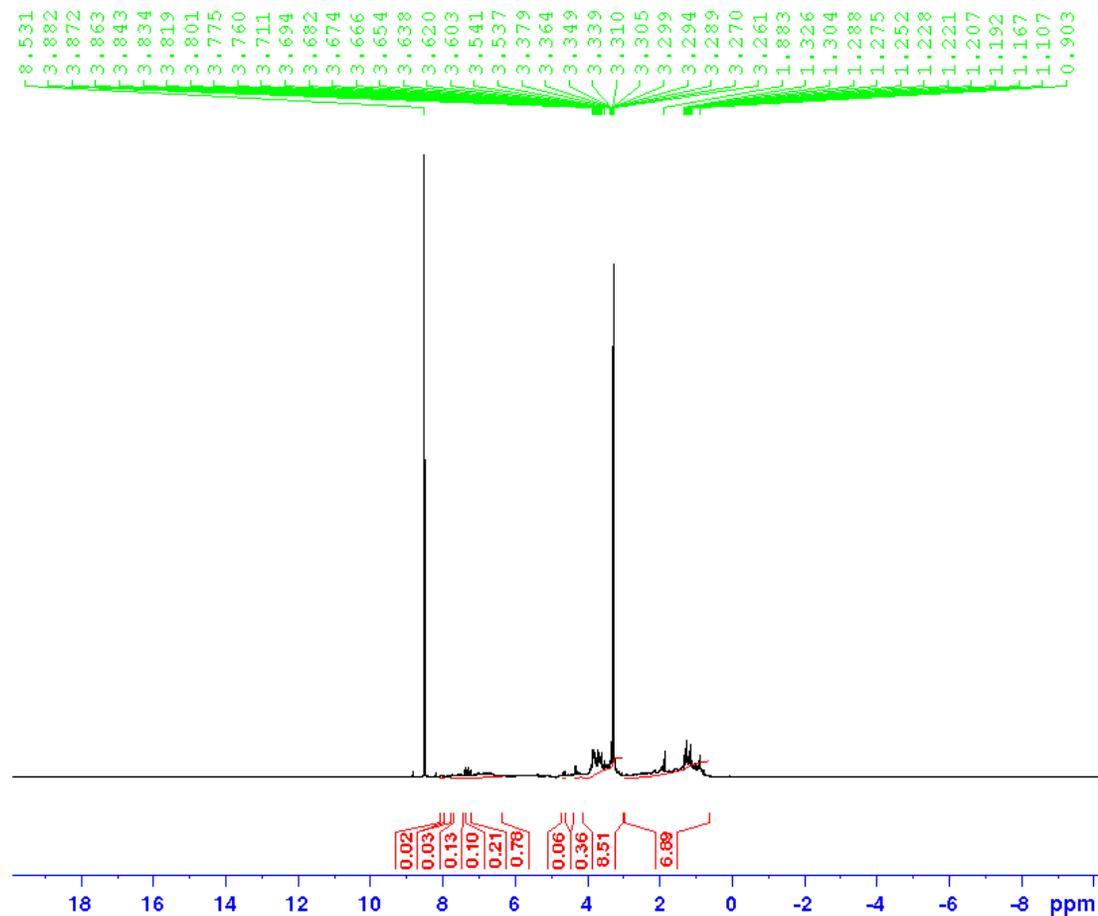


Anexo 11 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto II entre 3ppm y 4.7ppm (MeOD, 300MHz).



Anexo 12 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto II entre 0.7ppm y 2.6ppm (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF3 / MeOD / Protones
 Supresion de señal en 4.88 ppm



```

Current Data Parameters
NAME      ucvmr-rhf3
EXPNO     11
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20170605
Time      9.22
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   noesygprid
ID        32768
SOLVENT   MeOD
NS        2048
DS        4
SWH       9009.009 Hz
FIDRES    0.274933 Hz
AQ        1.8186240 sec
RG        200.12
DW        55.500 usec
DE        10.50 usec
TE        297.2 K
D1        2.00000000 sec
D6        0.01000000 sec
D12       0.00020000 sec
D16       0.00020000 sec
TD        2
ZGOFINS

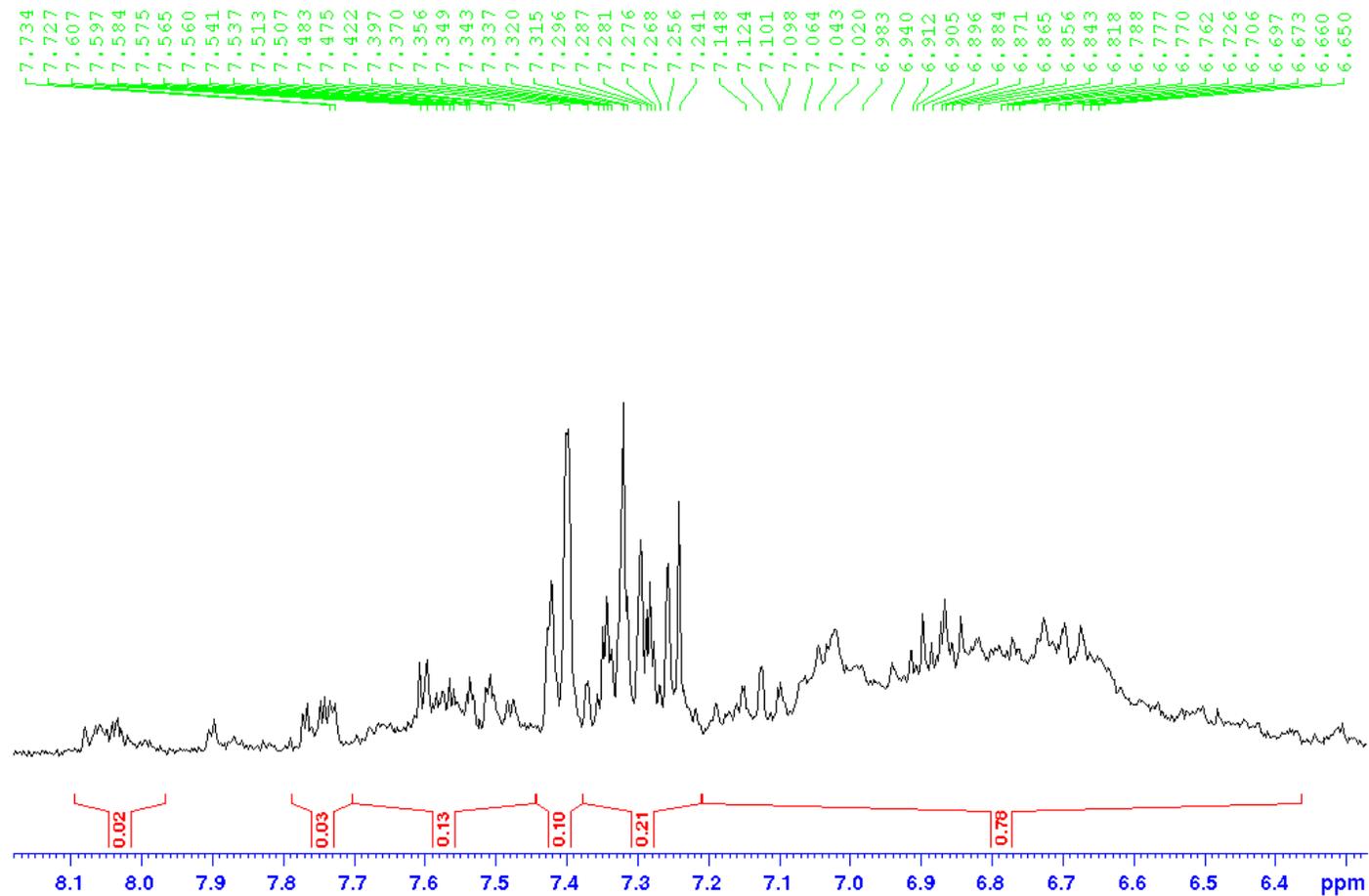
----- CHANNEL f1 -----
SFO1      300.2014749 MHz
NUC1      1H
P0        11.00 usec
P1        11.00 usec
PLW1     30.00000000 w
PLW9     0.00014520 w

----- GRADIENT CHANNEL -----
GPNAM[1]  SMSQ10.100
GPNAM[2]  SMSQ10.100
GP21      50.00 %
GP22     -10.00 %
P16       1000.00 usec

F2 - Processing parameters
SI        16384
SF        300.2000086 MHz
WDW       no
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC        1.00
  
```

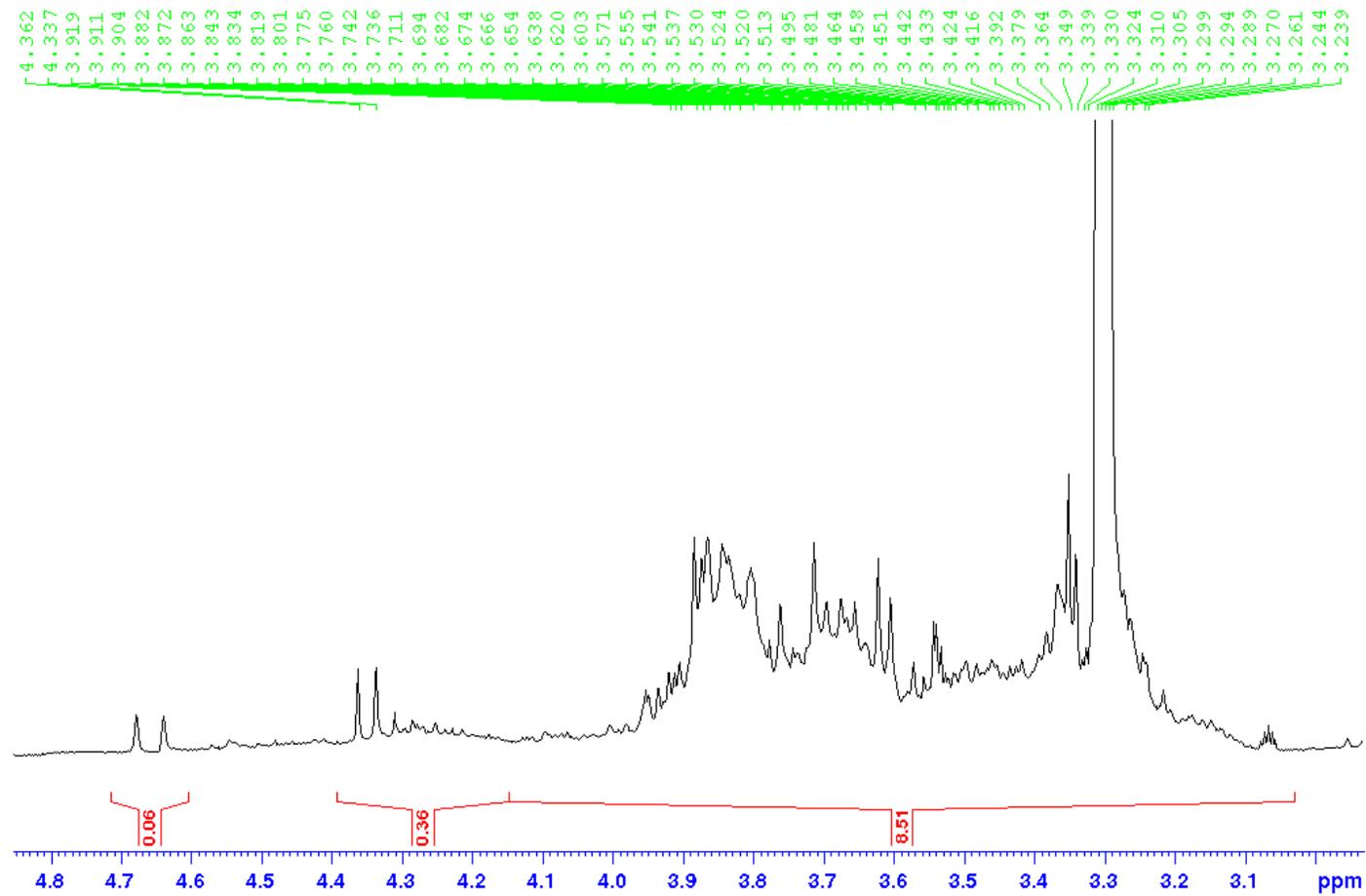
Anexo 13 Espectro de RMN ¹H del compuesto III (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF3 / MeOD / Protones
Supresion de señal en 4.88 ppm



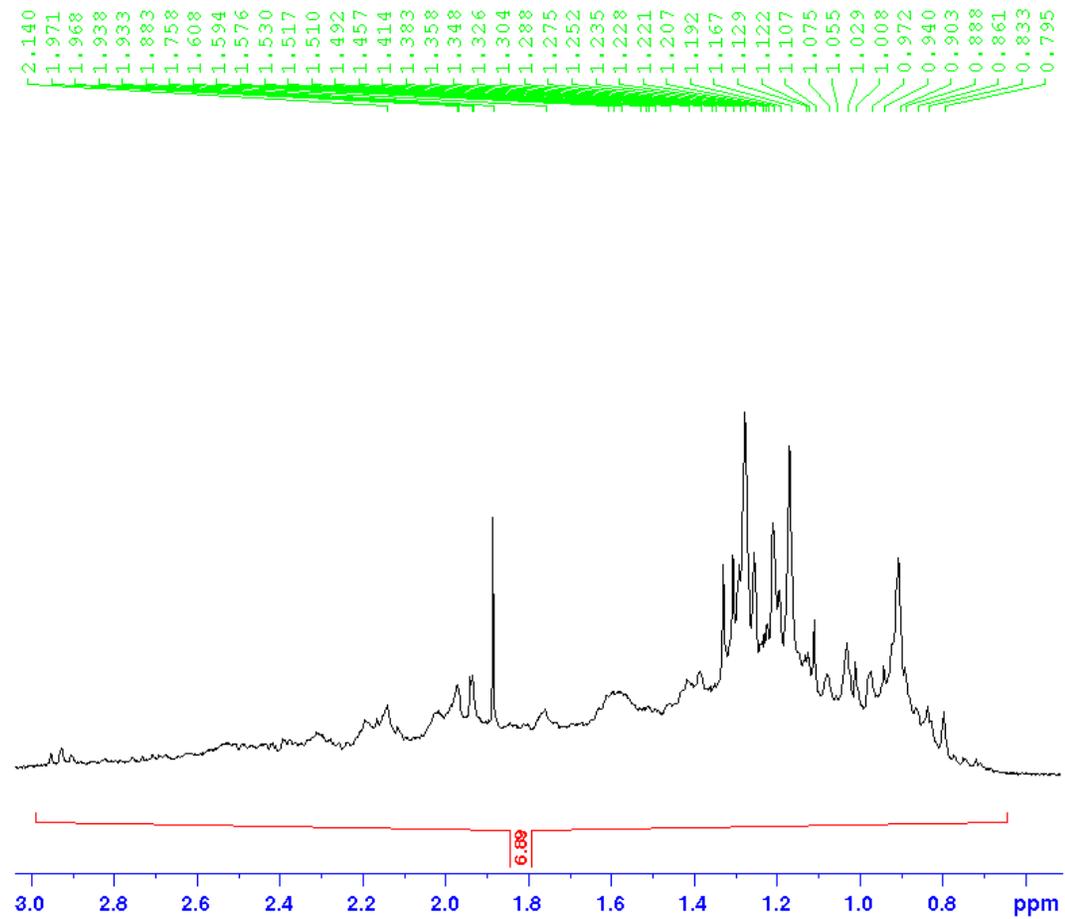
Anexo 14 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto III entre 6.3ppm y 8.2ppm (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF3 / MeOD / Protones
Supresion de señal en 4.88 ppm



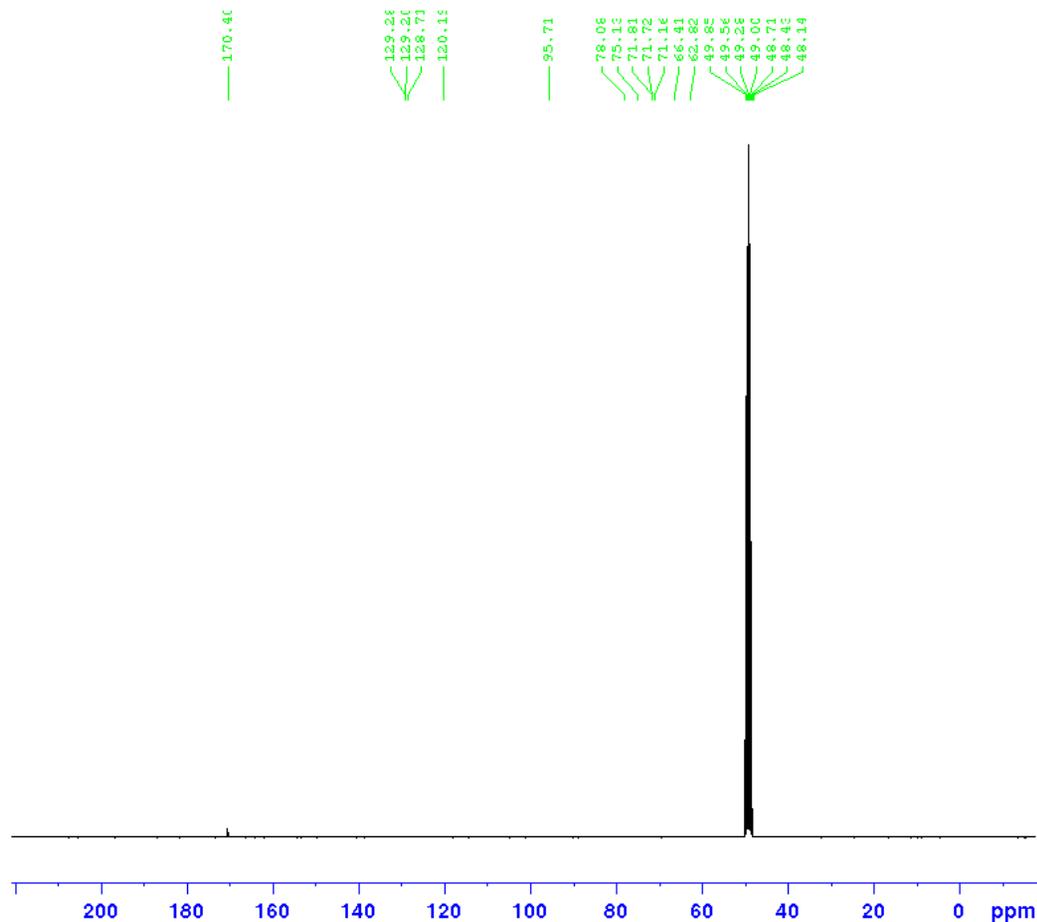
Anexo 15 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto III entre 2.9ppm y 4.8ppm (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF3 / MeOD / Protones
Supresion de señal en 4.88 ppm



Anexo 16 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto III entre 0.6ppm y 3ppm (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF3 / MeOD / Carbono



Current Data Parameters
NAME ucvmr-rhf3
EXFNO 3
PROCNO 1

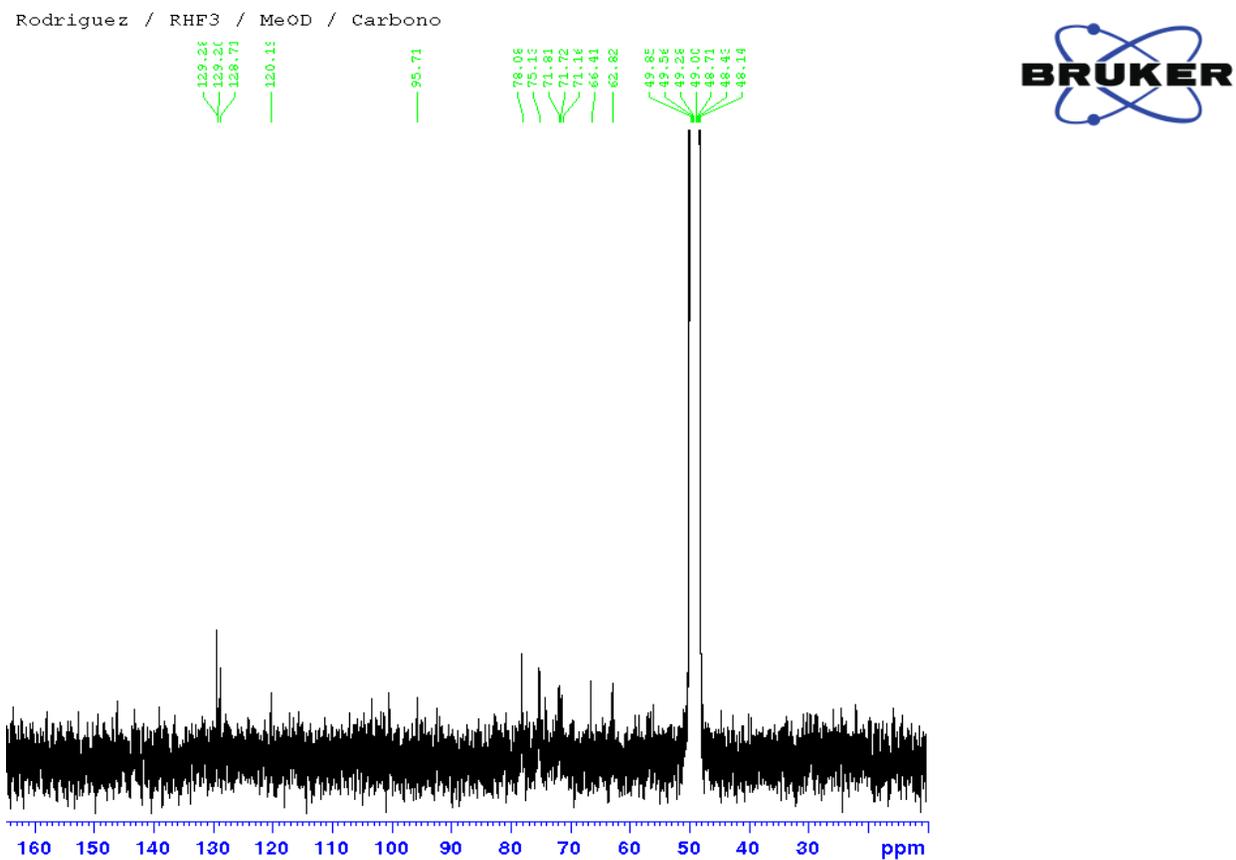
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20170617
Time 15.14
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP 1H/13
PULPROG zgpg30
TD 65536
SOLVENT MeOD
NS 39936
DS 4
SWH 18028.846 Hz
FIDRES 0.275098 Hz
AQ 1.8175317 sec
RG 200.12
DW 27.733 usec
DE 6.50 usec
TE 299.8 K
D1 2.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
TD0 64

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 75.4928982 MHz
NUC1 13C
P1 10.00 usec
PLW1 30.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2 300.2012008 MHz
NUC2 1H
CPDPRG[2] waltz16
PCPD2 90.00 usec
PLW2 30.00000000 W
PLW12 0.44815001 W
PLW13 0.36300001 W

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4852457 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

Anexo 17 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto III (MeOD, 75MHz).



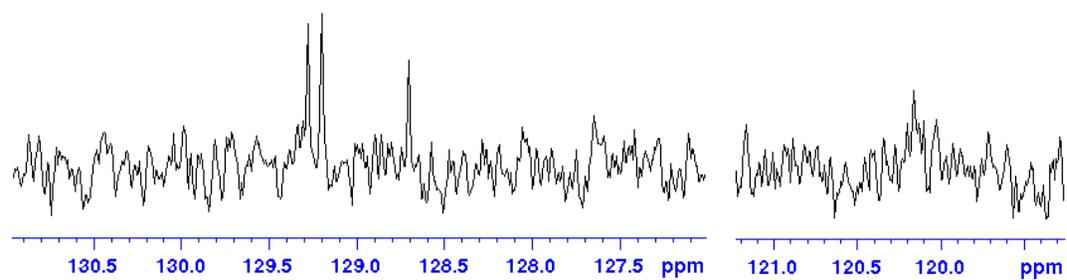
Anexo 18 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto III entre 20ppm y 160ppm (MeOD, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF3 / MeOD / Carbono

129.28
129.20

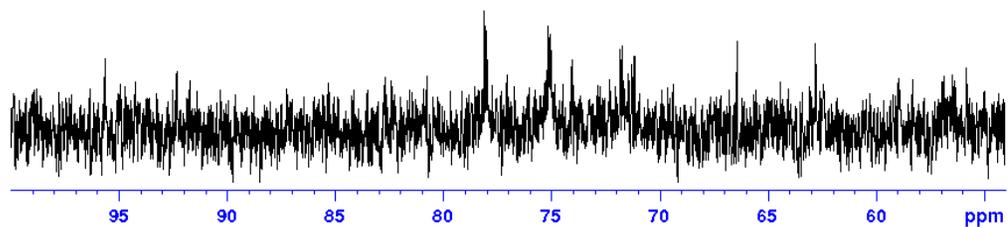
128.71

120.15



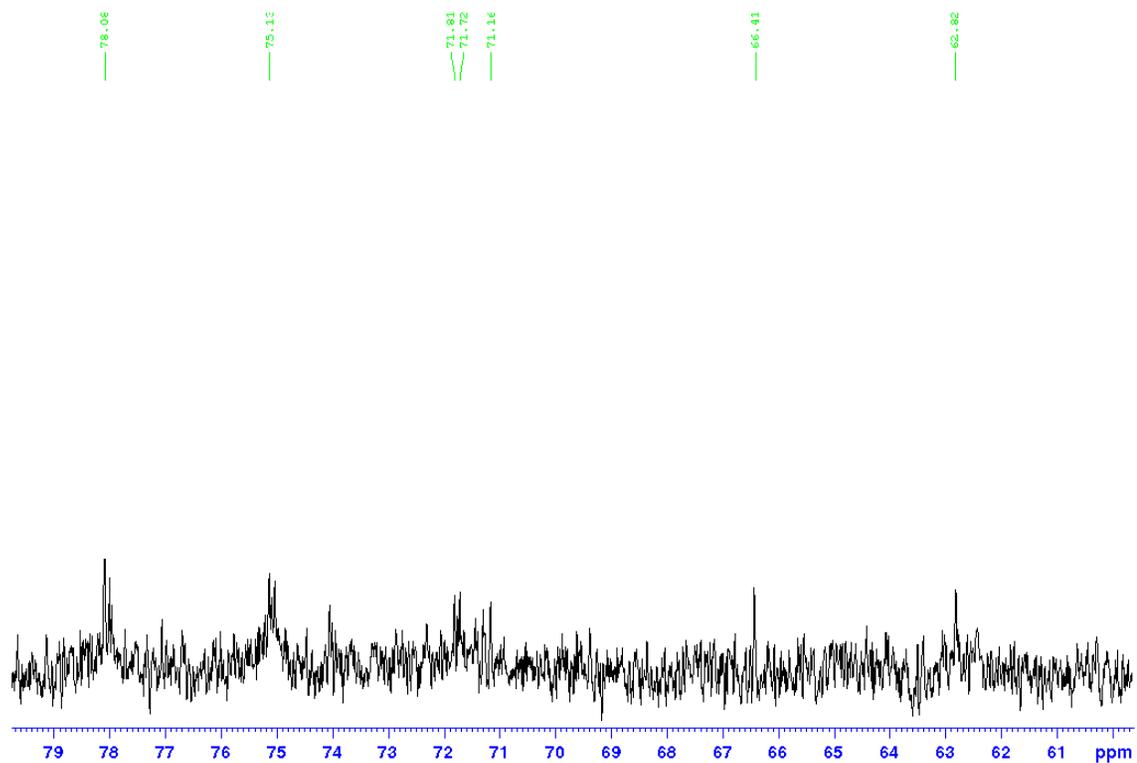
Anexo 19 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto III entre 120ppm y 130ppm (MeOD, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF3 / MeOD / Carbono



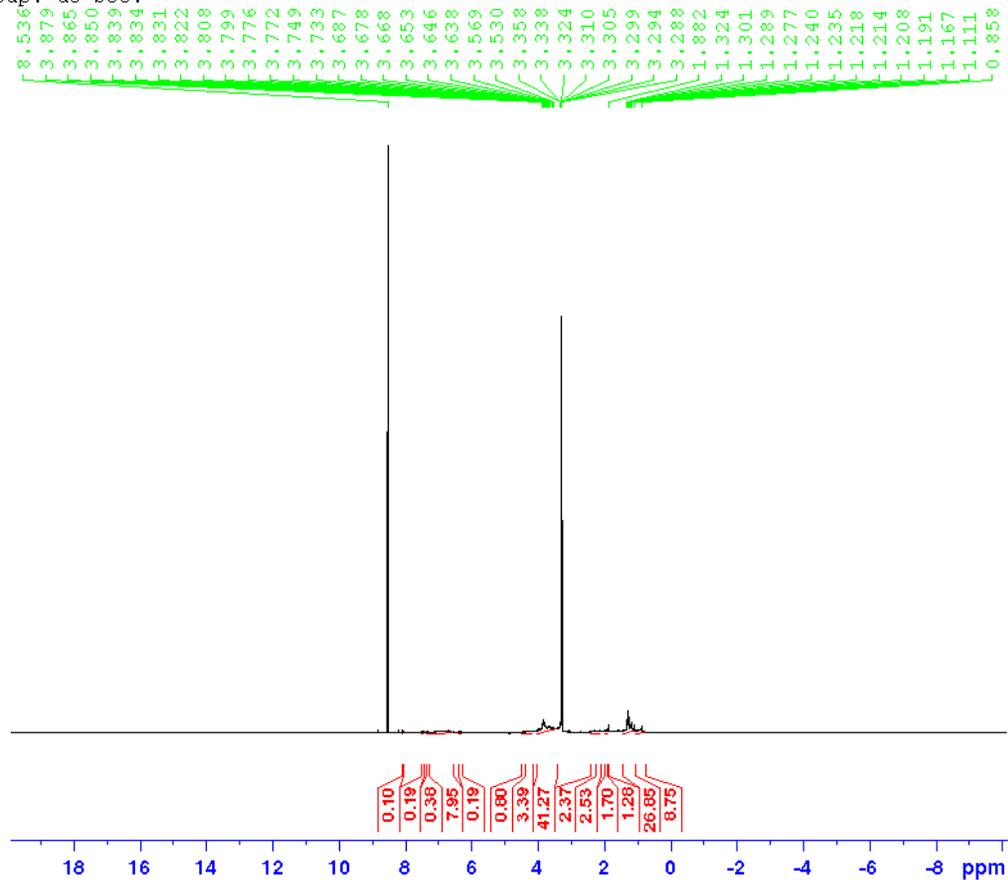
Anexo 20 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto III entre 50ppm y 100ppm (MeOD, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF3 / MeOD / Carbono



Anexo 21 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 3 entre 60 ppm y 80 ppm (MeOD, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF4 / MeOD / Protones
Sup. de Ste.



```

Current Data Parameters
NAME      ucvmr-rhf4
EXPNO     12
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20170615
Time      16.29
INSIRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   noesygprid
ID         32768
SOLVENT   MeOD
NS         6144
DS         4
SWH        9009.009 Hz
FIDRES     0.274933 Hz
AQ         1.8186240 sec
RG         200.12
DW         55.500 usec
DE         10.50 usec
TE         297.7 K
D1         2.00000000 sec
D8         0.01000000 sec
D12        0.00002000 sec
D16        0.00020000 sec
ID0        6
ZGPGPINS

----- CHANNEL f1 -----
SFO1      300.2014695 MHz
NUC1      1H
P0        11.00 usec
P1        11.00 usec
PLW1      30.00000000 W
PLW9      0.00014520 W

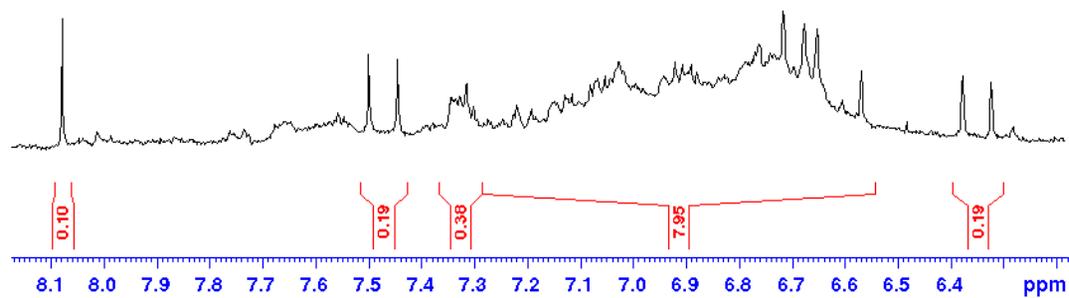
----- GRADIENT CHANNEL -----
GPNAM[1]  SMSQ10.100
GPNAM[2]  SMSQ10.100
GP21      50.00 %
GP22      -10.00 %
P16       1000.00 usec

F2 - Processing parameters
SI         16384
SF         300.2000087 MHz
WDW        no
SSB        0
LB         0 Hz
GB         0
PC         1.00
  
```

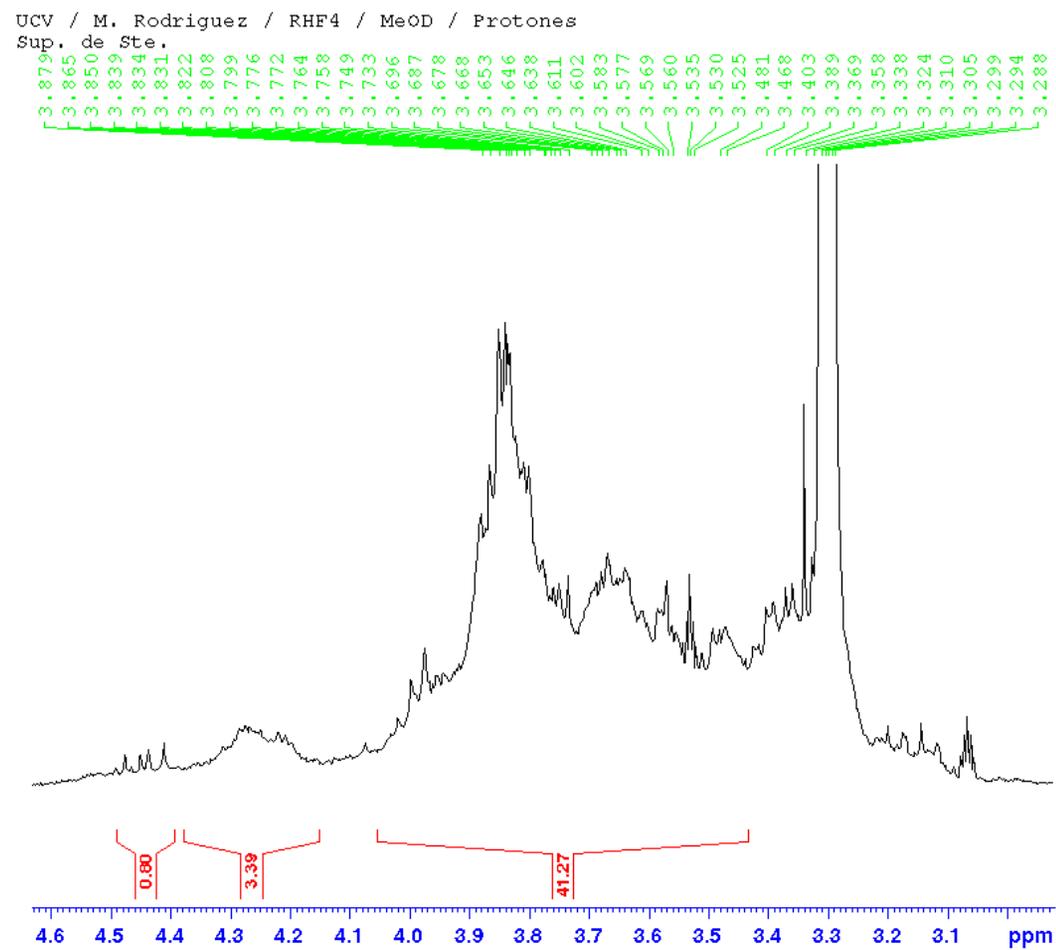
Anexo 22 Espectro de RMN ^1H del compuesto IV (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF4 / MeOD / Protones
 Sup. de Ste.

8.078
 7.497
 7.443
 7.343
 7.340
 7.325
 7.313
 7.300
 7.217
 7.189
 7.146
 7.127
 7.113
 7.100
 7.078
 7.064
 7.051
 7.024
 6.992
 6.978
 6.939
 6.918
 6.904
 6.888
 6.876
 6.825
 6.779
 6.766
 6.759
 6.738
 6.713
 6.692
 6.673
 6.649
 6.601
 6.565
 6.373
 6.319

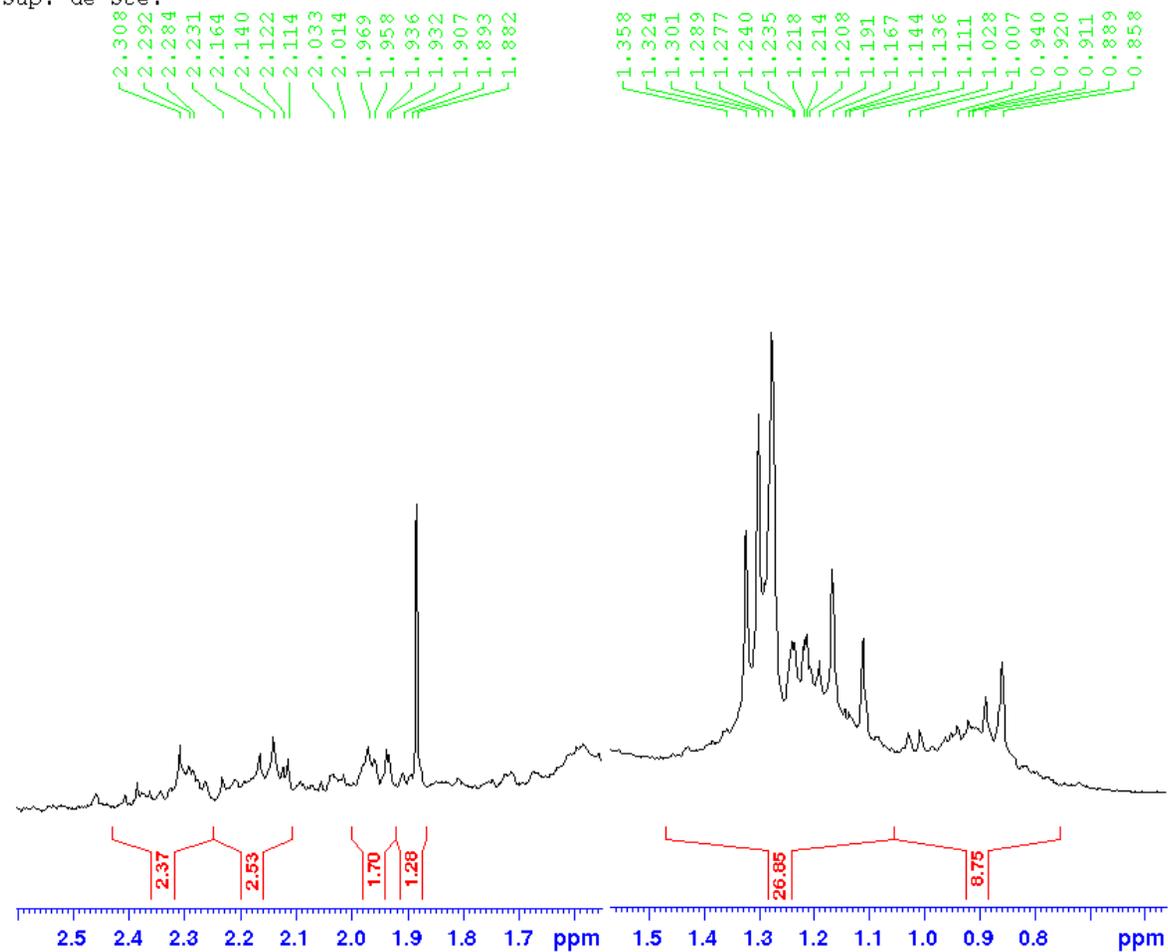


Anexo 23 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto IV entre 6 ppm y 8.1 ppm (MeOD, 300MHz).



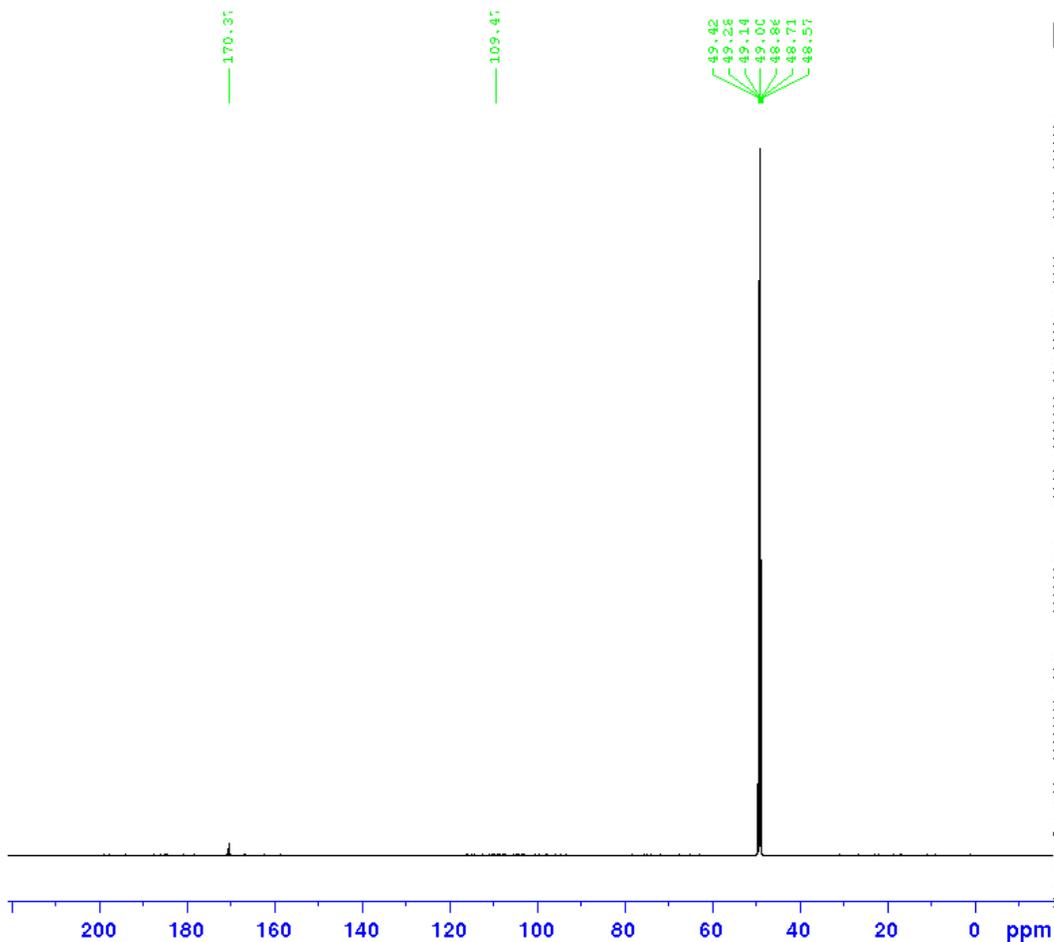
Anexo 24 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto IV entre 3 ppm y 4.6 ppm (MeOD, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHF4 / MeOD / Protones
Sup. de Ste.



Anexo 25 Ampliación del Espectro de RMN ¹H del compuesto IV entre 0.7ppm y 2.5 ppm (MeOD, 300MHz).

UCV /M. Rodriguez / RHF4 / MeOD / Carbono



Current Data Parameters
 NAME ucvmr-rhf4
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20170624
 Time 14.17
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm PATXI 1H/
 PULPROG zgpg30
 TD 65536
 SOLVENT MeOD
 NS 52120
 DS 4
 SWH 36057.691 Hz
 FIDRES 0.550197 Hz
 AQ 0.9087659 sec
 RG 190.12
 DW 13.867 usec
 DE 6.50 usec
 TE 298.1 K
 D1 2.00000000 sec
 D11 0.03000000 sec
 TD0 64

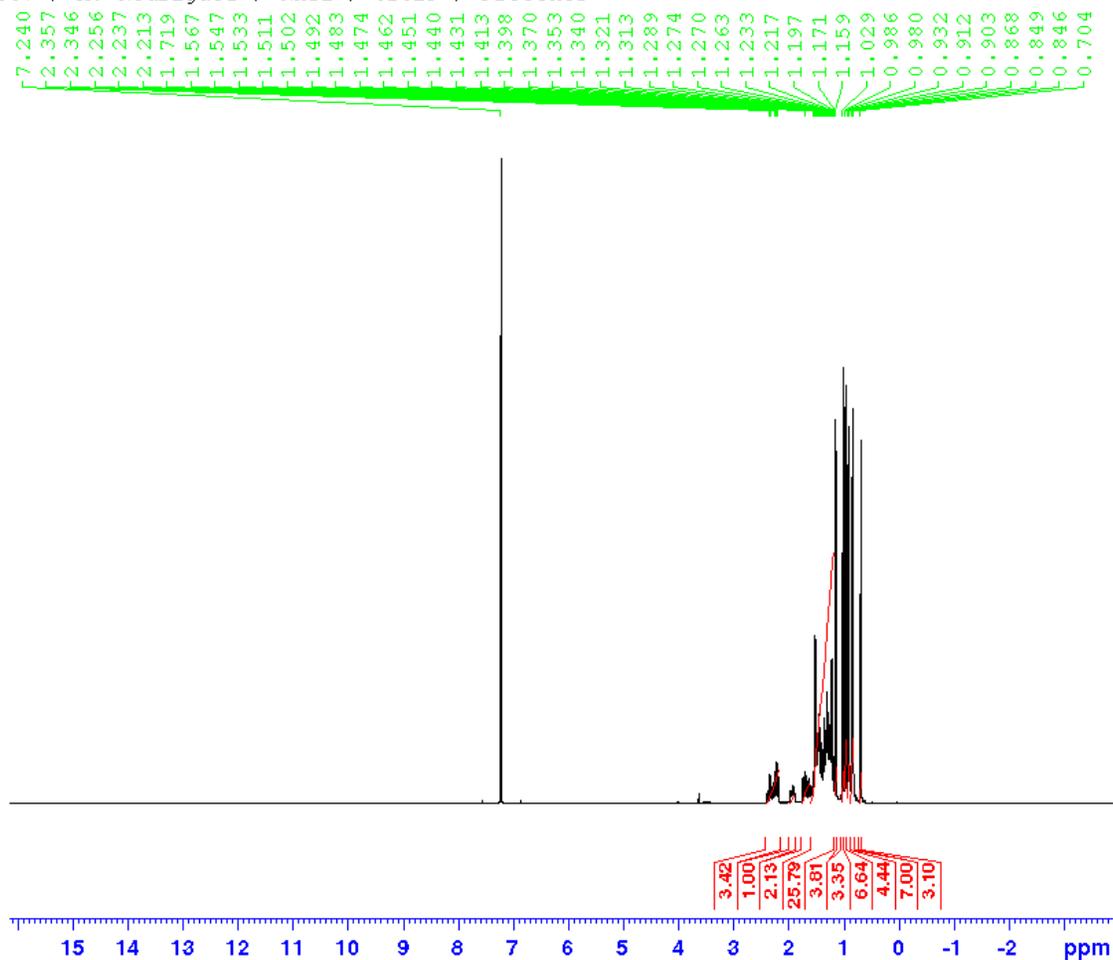
===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 150.8952653 MHz
 NUC1 13C
 P1 11.00 usec
 PLW1 220.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
 SFO2 600.0424002 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG[2] waltz16
 PCPD2 70.00 usec
 PLW2 9.00000000 W
 PLW12 0.18002000 W
 PLW13 0.08820900 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 150.8799670 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

Anexo 26 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto IV (MeOD, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT1 / CDCl3 / Protones



Current Data Parameters

NAME ucvmr-rht1
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20170405
Time 14.22
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP 1H/13
FULPROG zg30
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 128
DS 2
SWH 6009.615 Hz
FIDRES 0.091699 Hz
AQ 5.4525952 sec
RG 200.12
DW 83.200 usec
DE 6.50 usec
TE 298.2 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

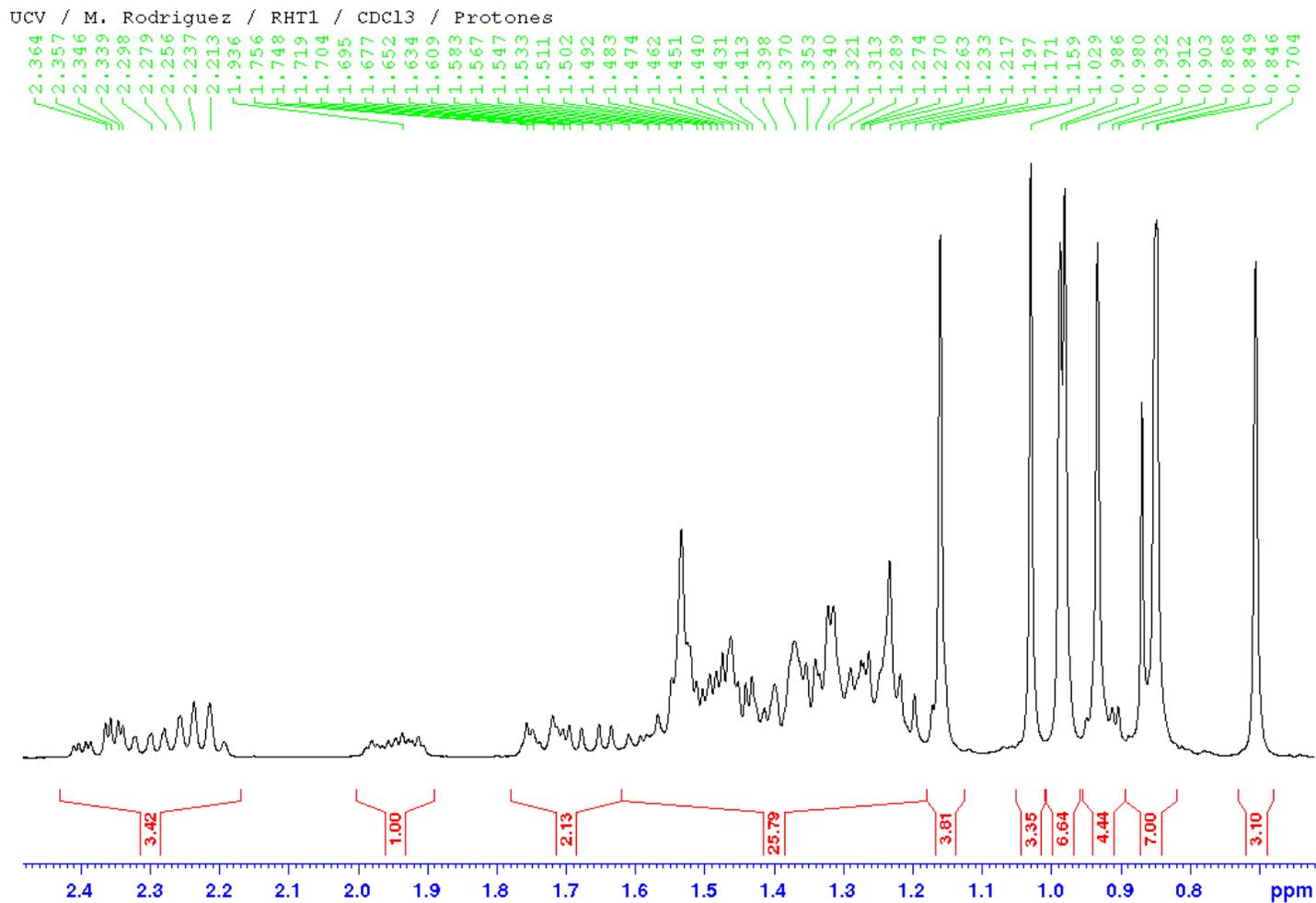
===== CHANNEL f1 =====

SFO1 300.2018539 MHz
NUC1 1H
P1 11.00 usec
PLW1 30.00000000 W

F2 - Processing parameters

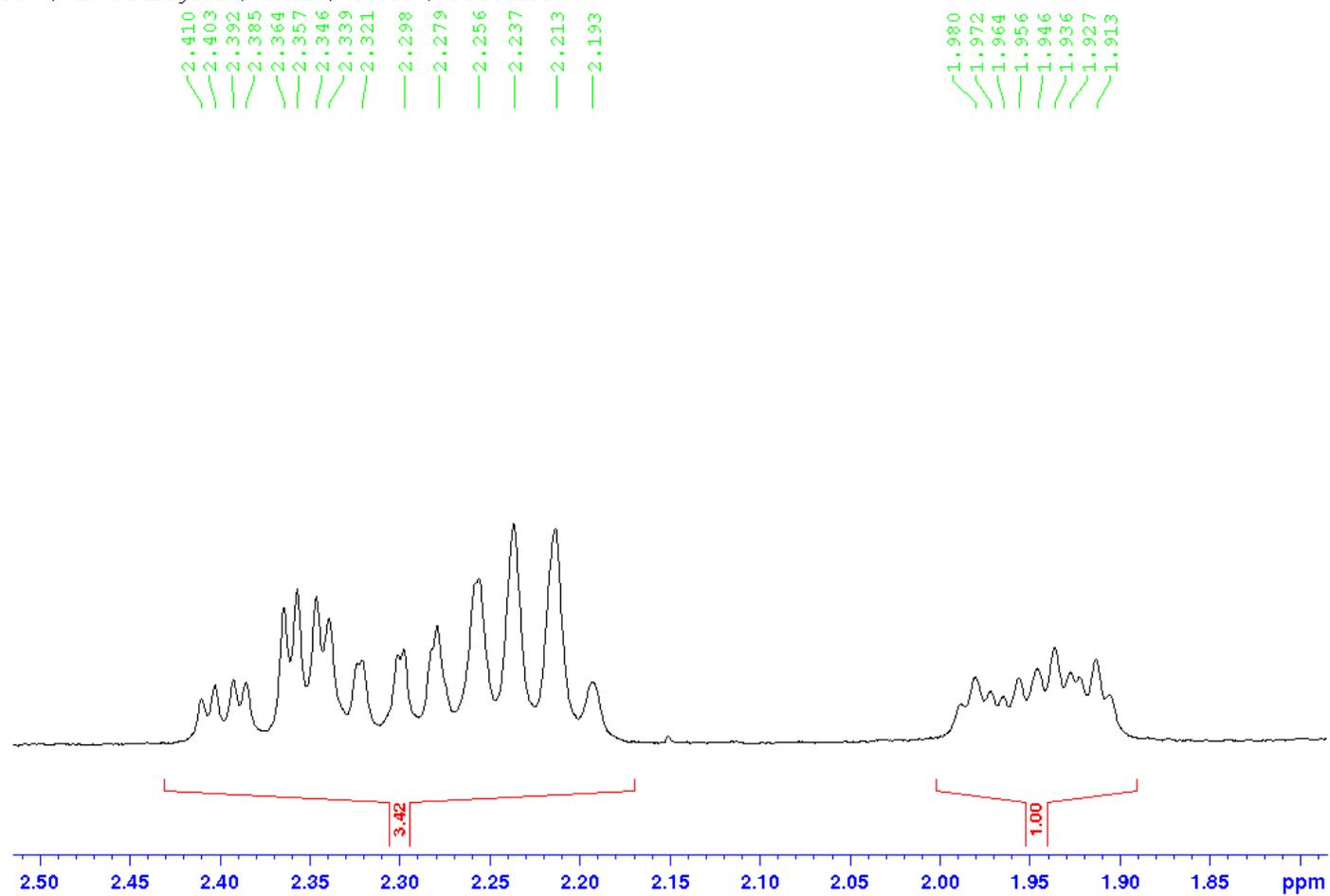
SI 65536
SF 300.2000132 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

Anexo 27 Espectro de RMN ^1H del compuesto A (CDCl_3 , 300MHz).

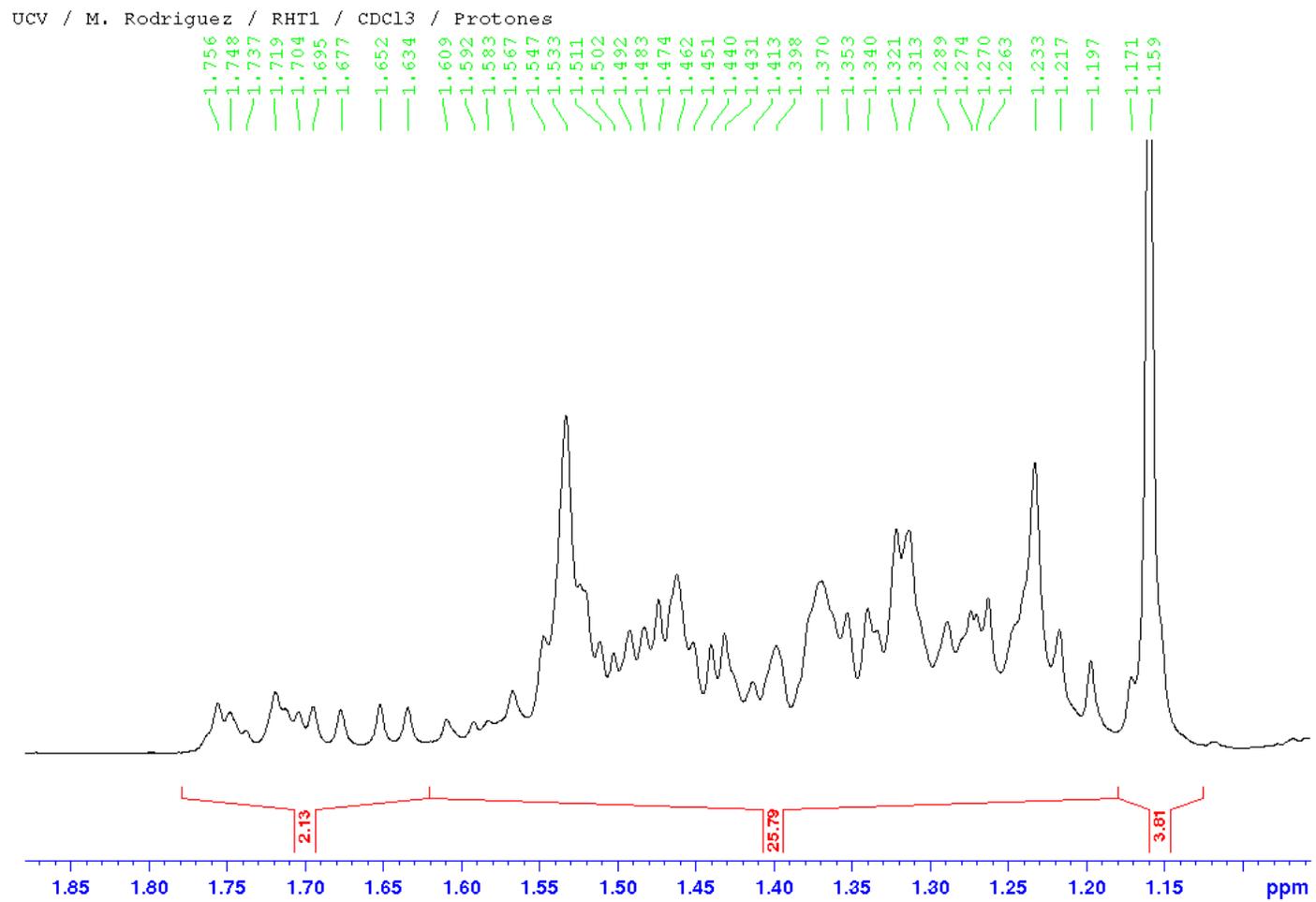


Anexo 28 Ampliación del Espectro de RMN ¹H del compuesto A entre 2.4 ppm y 0.8ppm (CDCl₃, 300MHz).

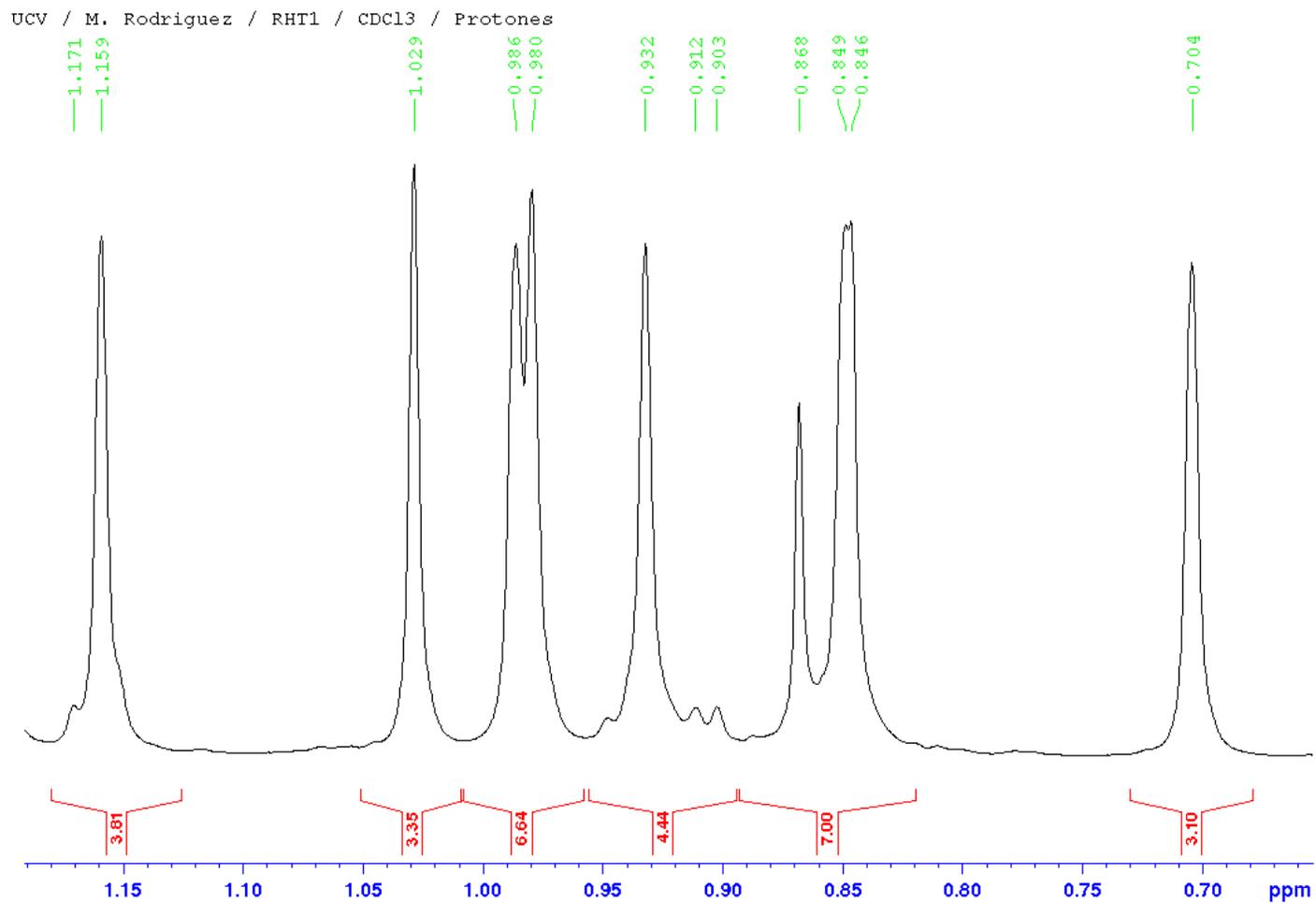
UCV / M. Rodriguez / RHT1 / CDCl3 / Protones



Anexo 29 Ampliación del Espectro de RMN ^1H del compuesto A entre 2.50ppm y 1.85ppm (CDCl_3 , 300MHz).

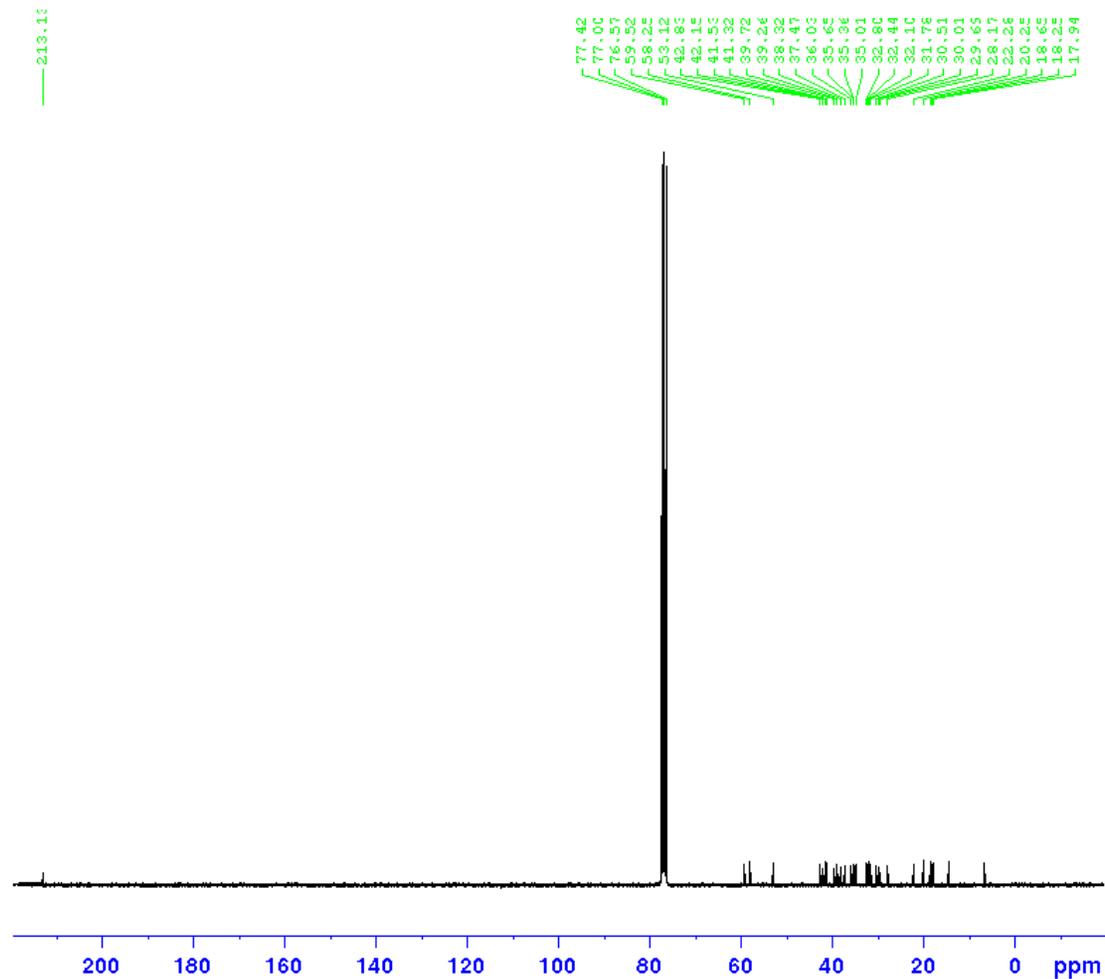


Anexo 30 Ampliación del Espectro de RMN ¹H del compuesto A entre 1.85ppm y 1.15ppm (CDCl₃, 300MHz).



Anexo 31 Ampliación del Espectro de RMN ¹H del compuesto A entre 1.15ppm y 0.7ppm (CDCl₃, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT1 / CDCl3 / Carbono



Current Data Parameters
 NAME ucvmr-rht1
 EXPNO 2
 PROCNO 1

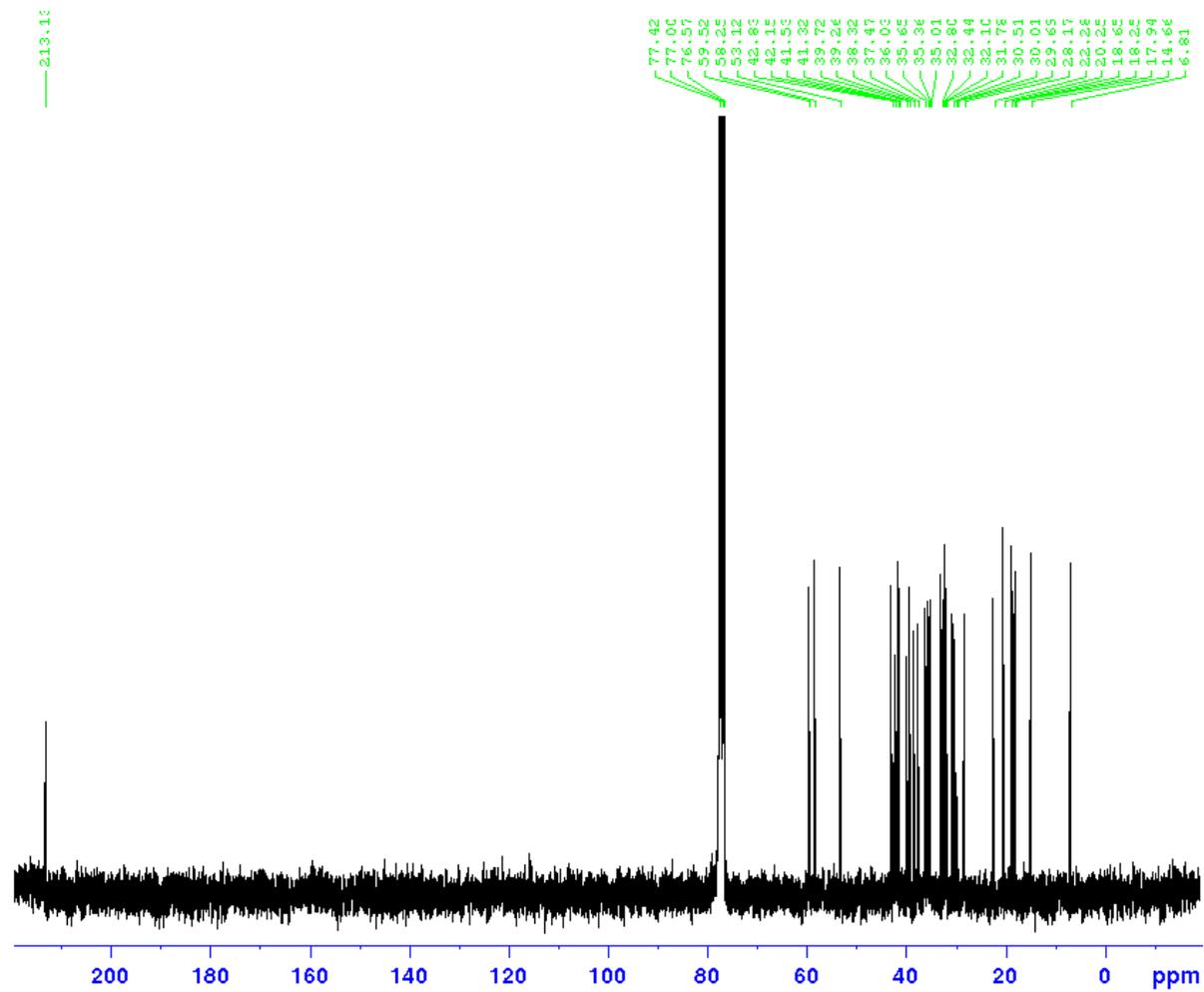
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20170505
 Time 0.02
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13
 PULPROG zgpg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 6644
 DS 4
 SWH 18028.846 Hz
 FIDRES 0.275098 Hz
 AQ 1.8175317 sec
 RG 200.12
 DW 27.733 usec
 DE 6.50 usec
 TE 299.0 K
 D1 2.00000000 sec
 D11 0.03000000 sec
 TD0 15

===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 75.4928982 MHz
 NUC1 13C
 P1 10.00 usec
 PLW1 30.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
 SFO2 300.2012008 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG[2] waltz16
 PCD2 90.00 usec
 PLW2 30.00000000 W
 PLW12 0.44815001 W
 PLW13 0.36300001 W

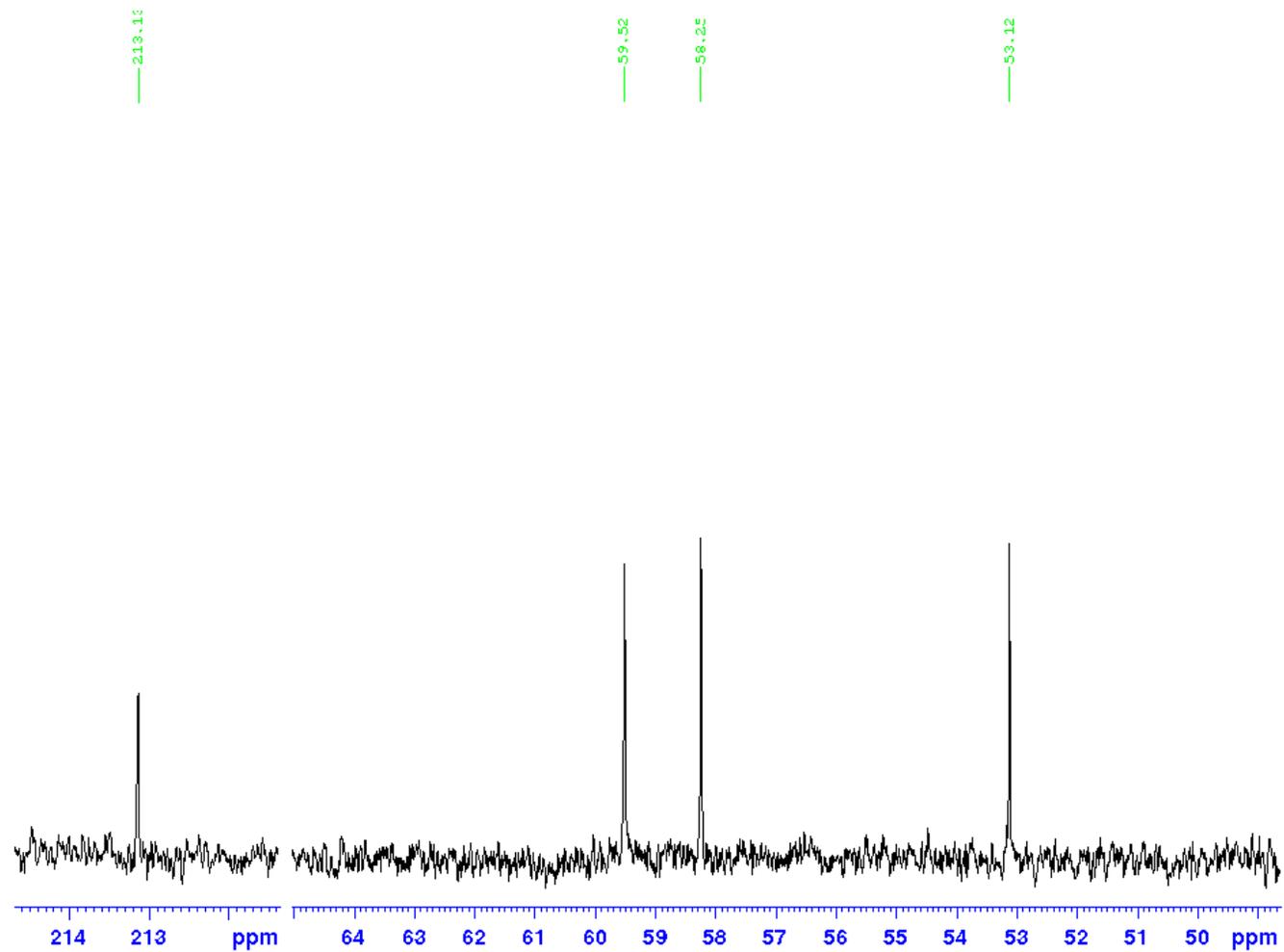
F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4853499 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

Anexo 32 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto A (CDCl_3 , 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT1 / CDCl₃ / Carbono

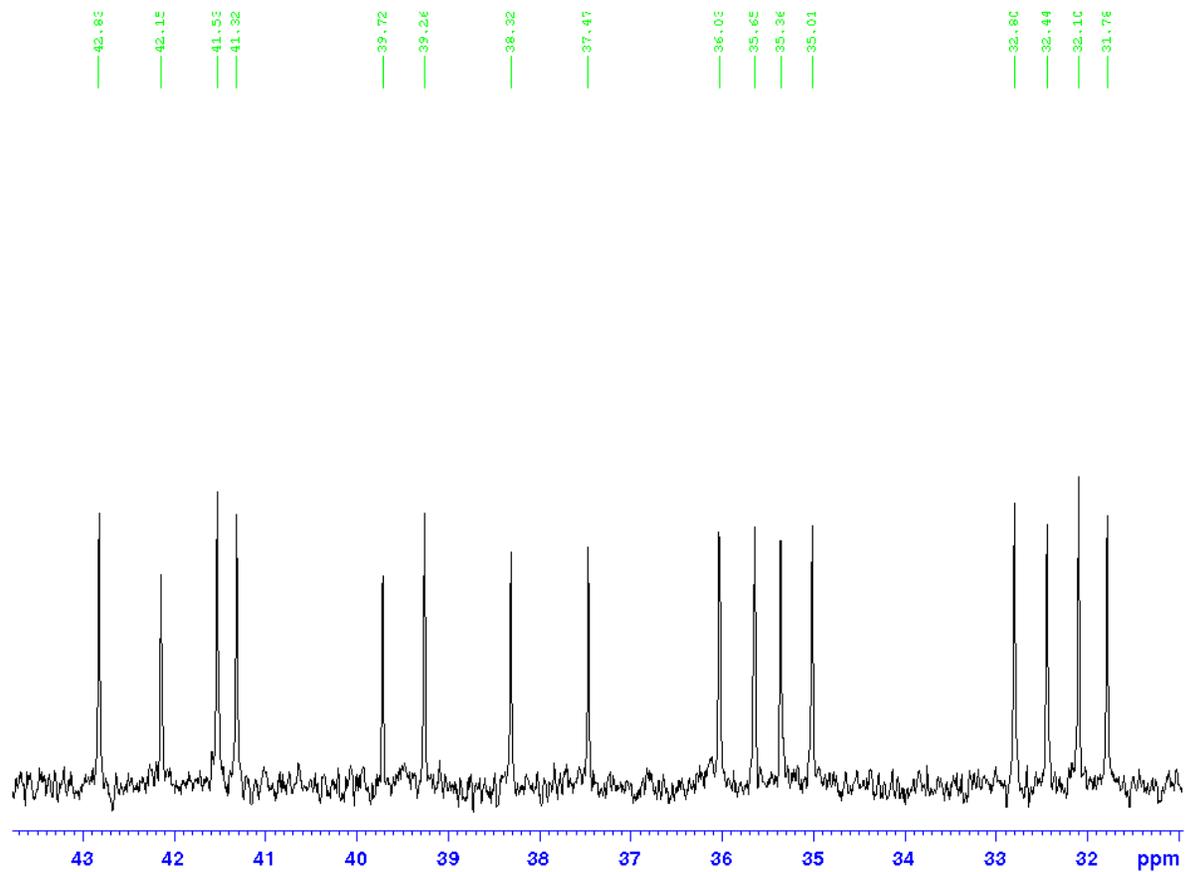
Anexo 33 Ampliación del Espectro de RMN ¹³C del compuesto A. (CDCl₃, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT1 / CDCl₃ / Carbono



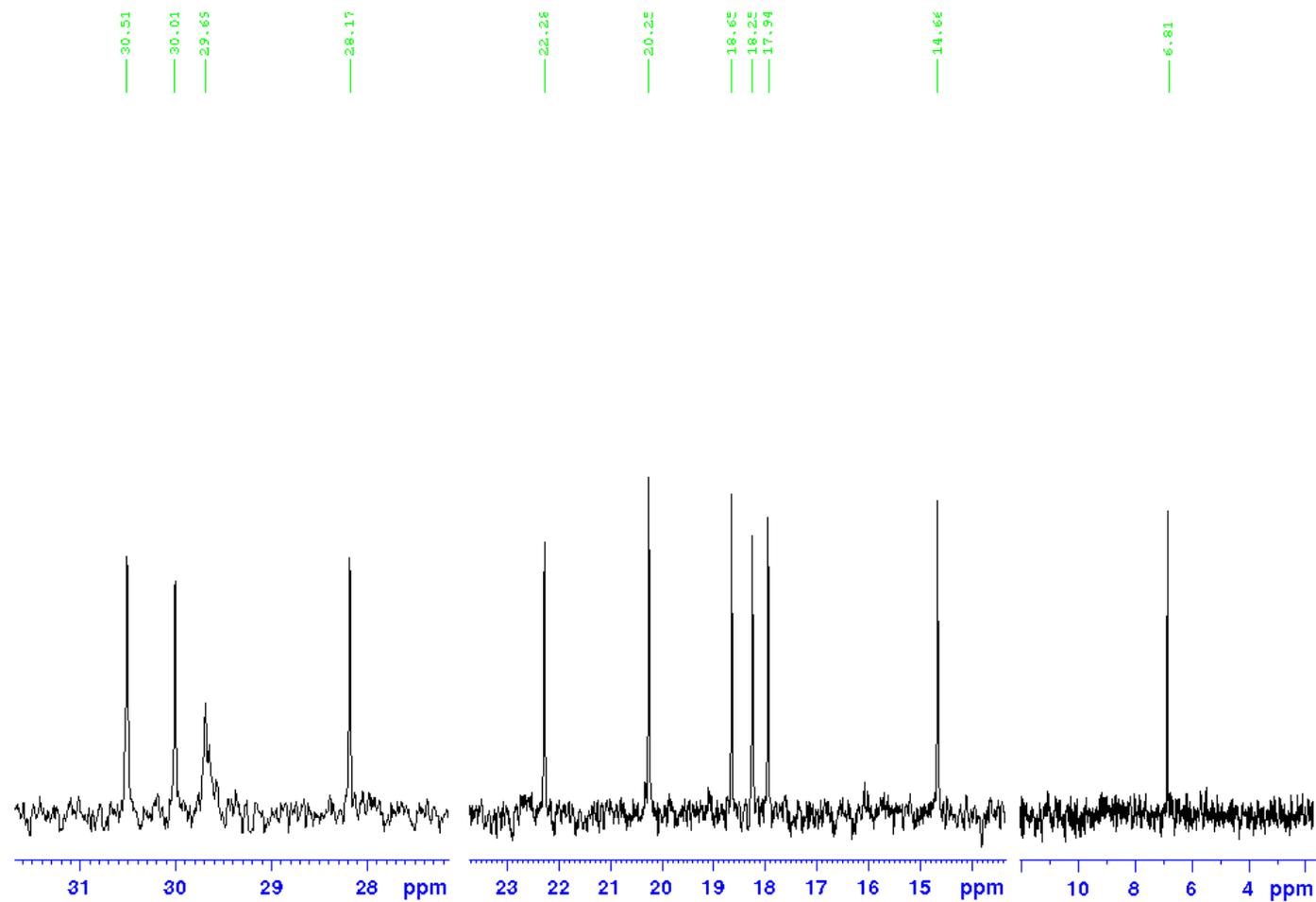
Anexo 34 Ampliación del Espectro de RMN ¹³C del compuesto A entre 64ppm y 50ppm (CDCl₃, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT1 / CDCl₃ / Carbono



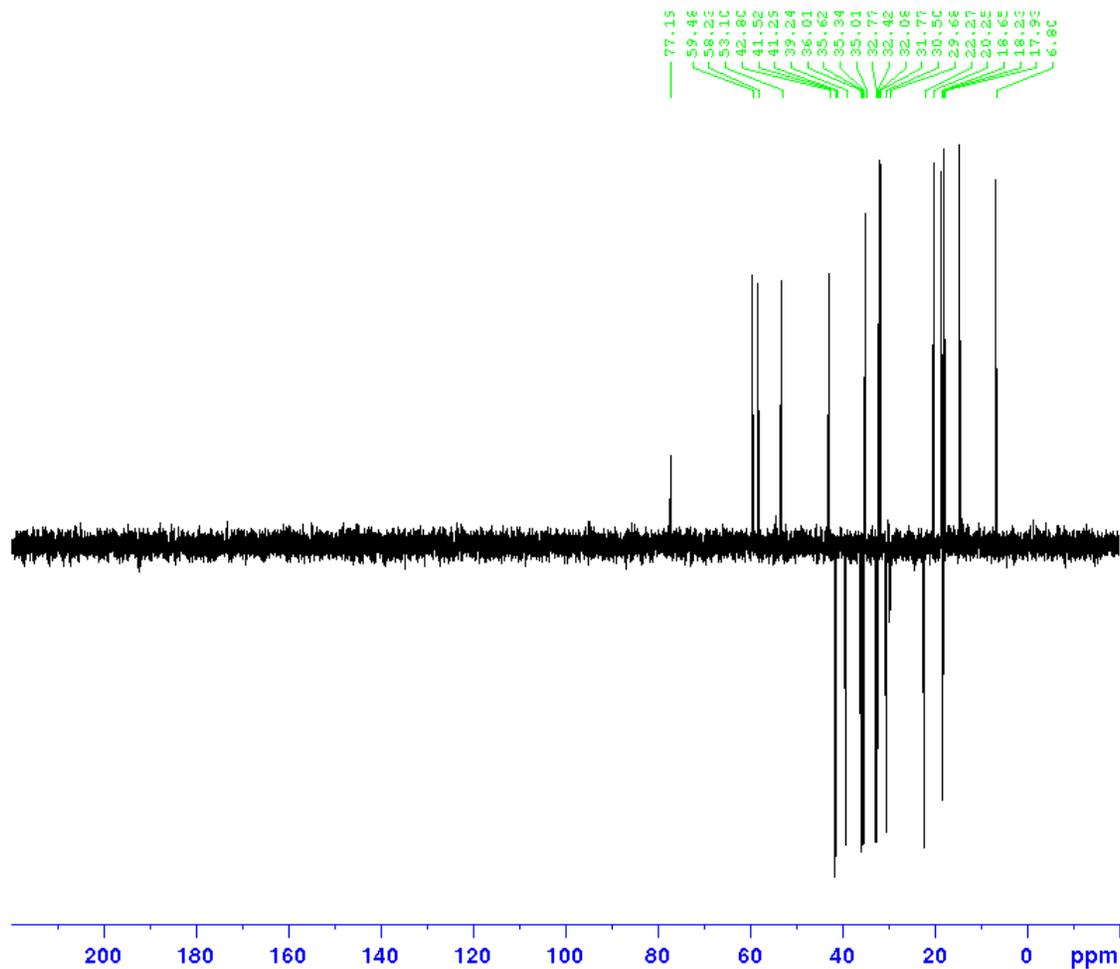
Anexo 35 Ampliación del Espectro de RMN ¹³C del compuesto A entre 43ppm y 32ppm (CDCl₃, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT1 / CDCl3 / Carbono



Anexo 36 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto A entre 31ppm y 4ppm (CDCl_3 , 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT1 / CDC13 / DEPT 135



Current Data Parameters
 NAME ucvmr-rht1
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20170504
 Time 17.27
 INSTRUM spect
 PROBEHD 5 mm QNP 1H/13
 PULPROG deptep135
 TD 65536
 SOLVENT CDC13
 NS 6144
 DS 4
 SWH 18115.941 Hz
 FIDRES 0.276427 Hz
 AQ 1.8087925 sec
 RG 200.12
 DM 27.600 usec
 DE 6.50 usec
 TE 299.0 K
 CNST2 145.0000000
 D1 2.00000000 sec
 D2 0.00344828 sec
 D12 0.00002000 sec
 TD0 6

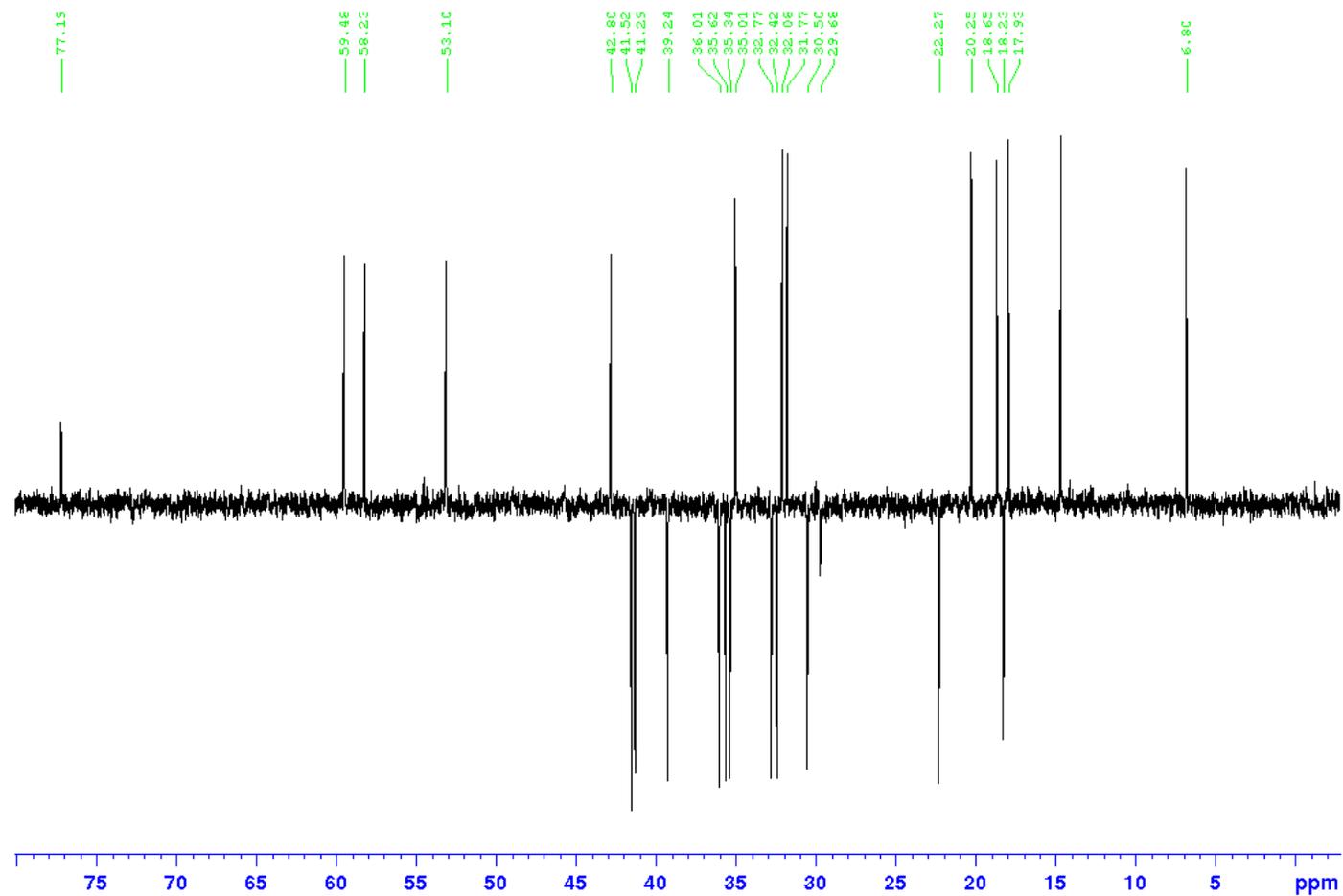
----- CHANNEL f1 -----
 SFO1 75.4928982 MHz
 NUC1 13C
 P1 10.00 usec
 P13 2000.00 usec
 PLW0 0 W
 PLW1 30.00000000 W
 SPNAM[5] Crp60comp.4
 SFOALS 0.500
 SPOFFS5 0 Hz
 SPW5 4.58370018 W

----- CHANNEL f2 -----
 SFO2 300.2009601 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG [2] waltz16
 P2 11.00 usec
 P4 22.00 usec
 PCPD2 90.00 usec
 PLW2 30.00000000 W
 PLW12 0.44815001 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4853512 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

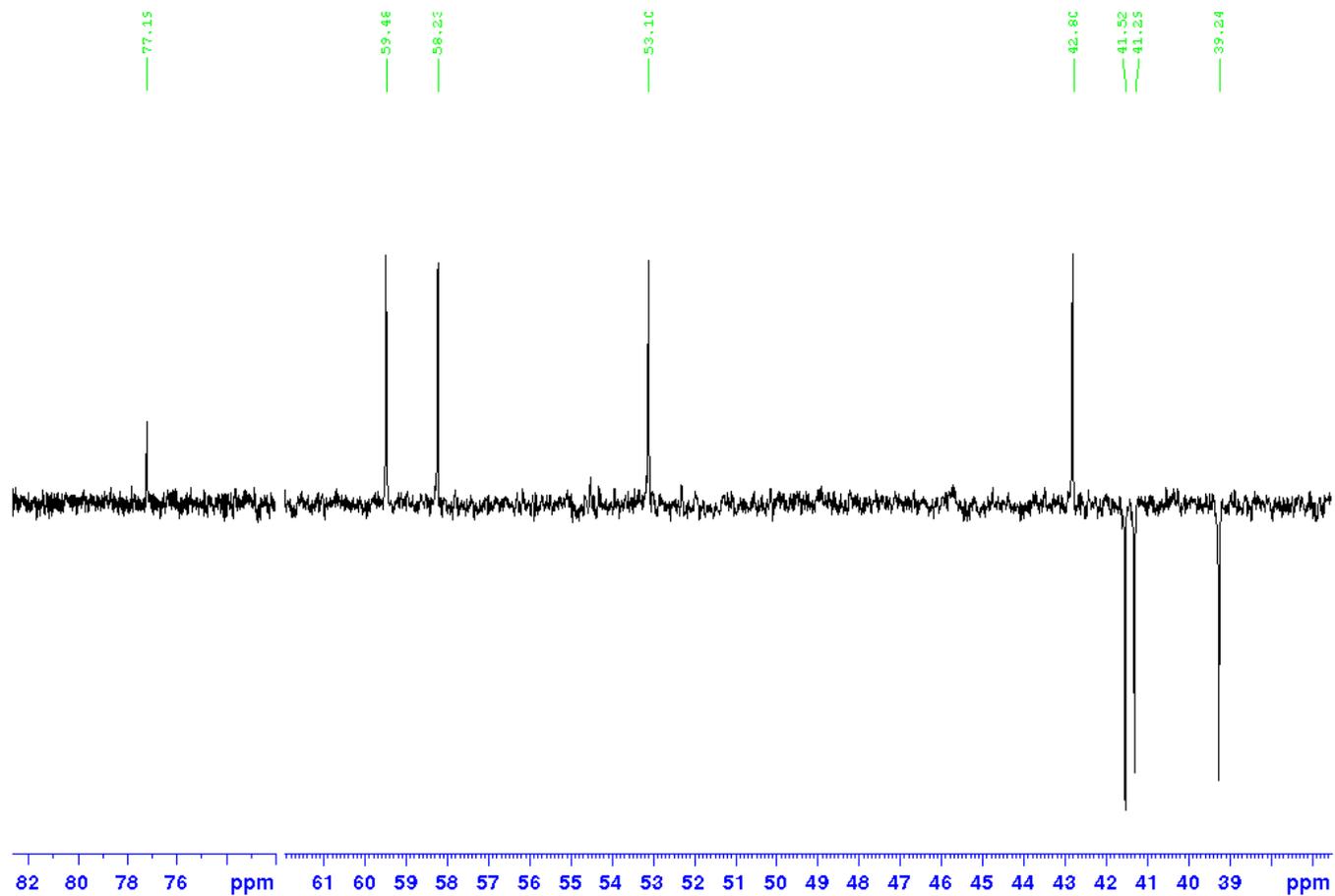
Anexo 37 Espectro DEPT 135 de RMN ^{13}C del compuesto A (MeOD, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT1 / CDCl3 / DEPT 135

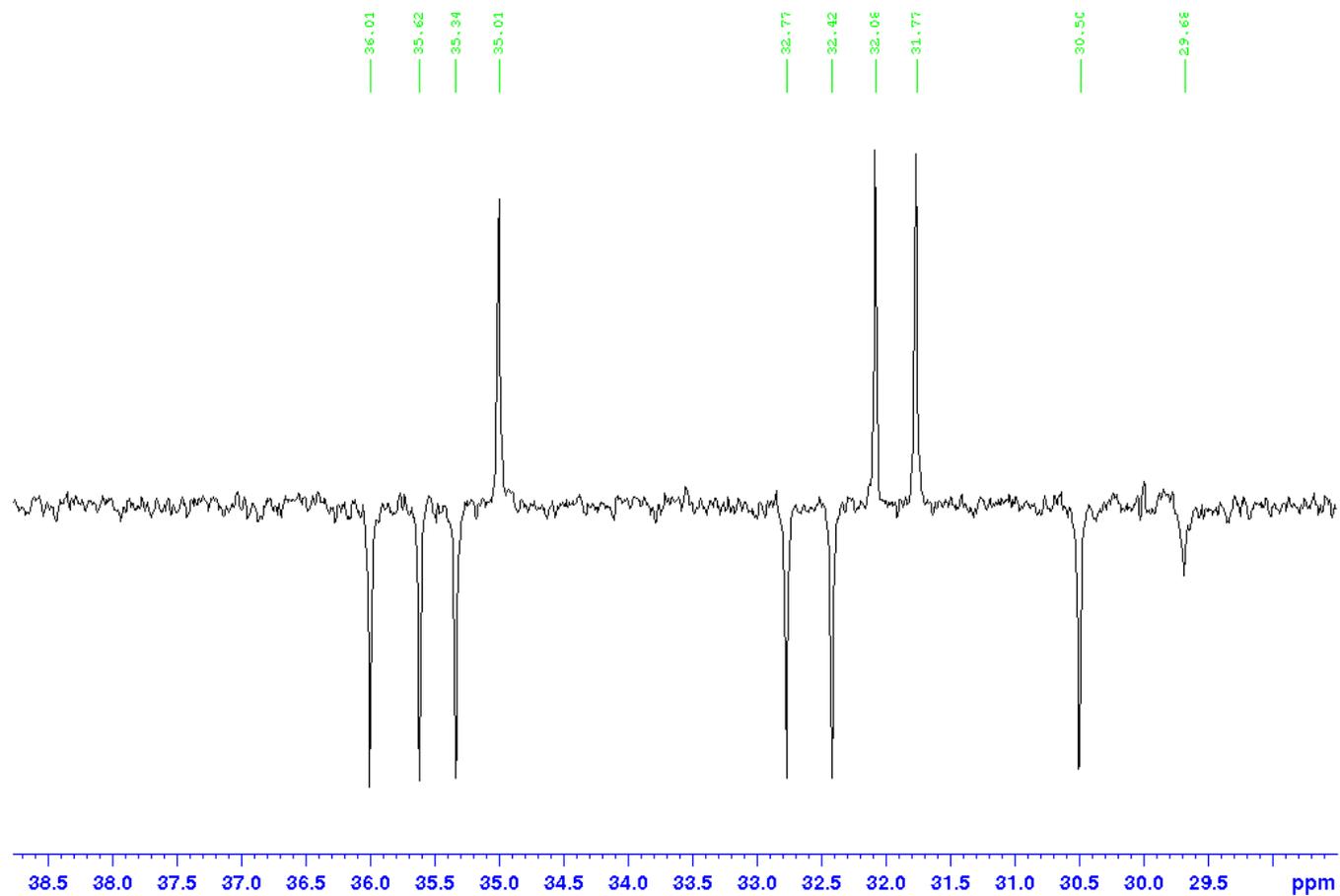


Anexo 38 Ampliación del espectro DEPT de RMN ^{13}C del compuesto A entre 75ppm y 5ppm (CDCl_3 , 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT1 / CDCl3 / DEPT 135

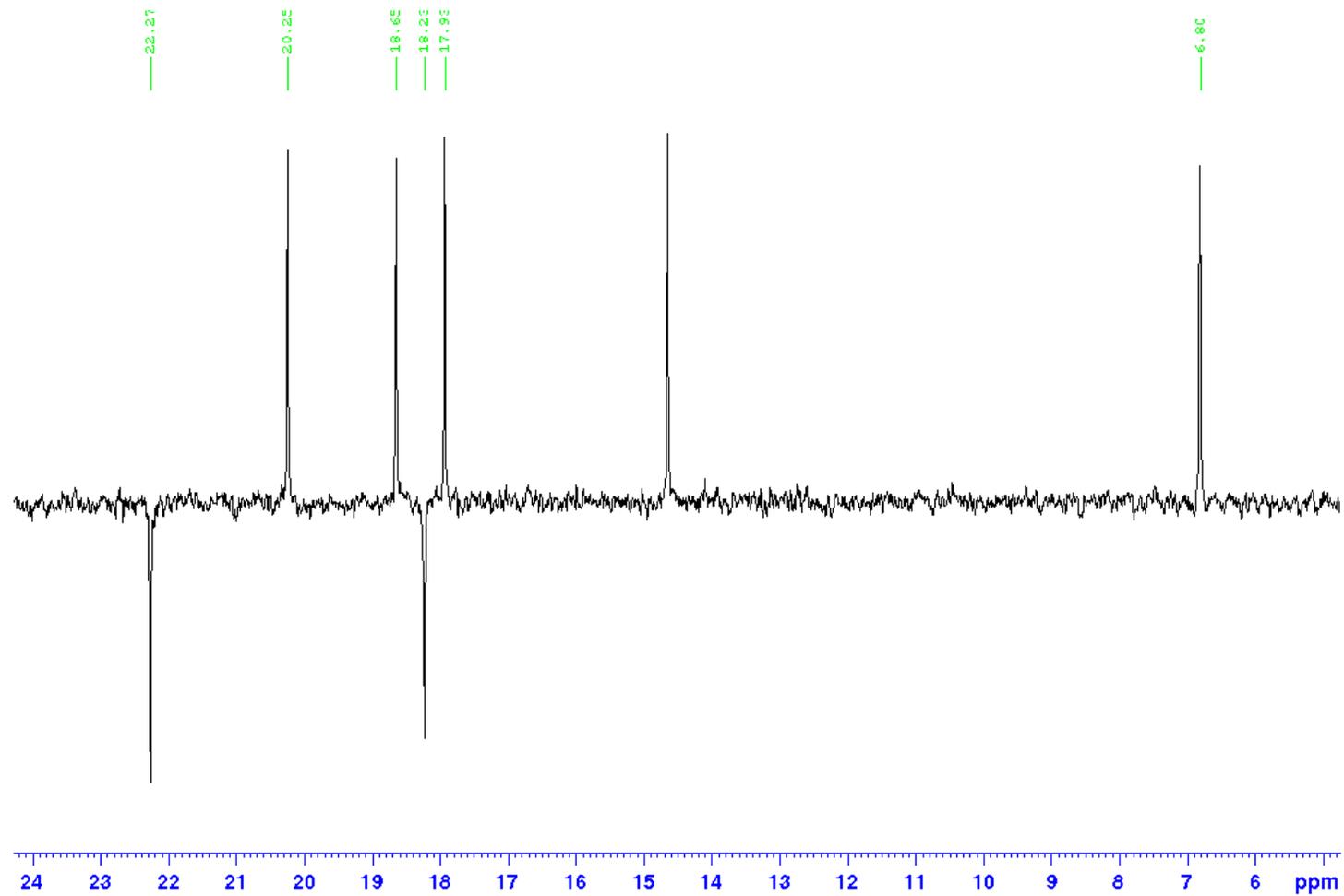


Anexo 39 Ampliación del espectro DEPT de RMN ^{13}C del compuesto A entre 61ppm y 39ppm (CDCl_3 , 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT1 / CDCl₃ / DEPT 135

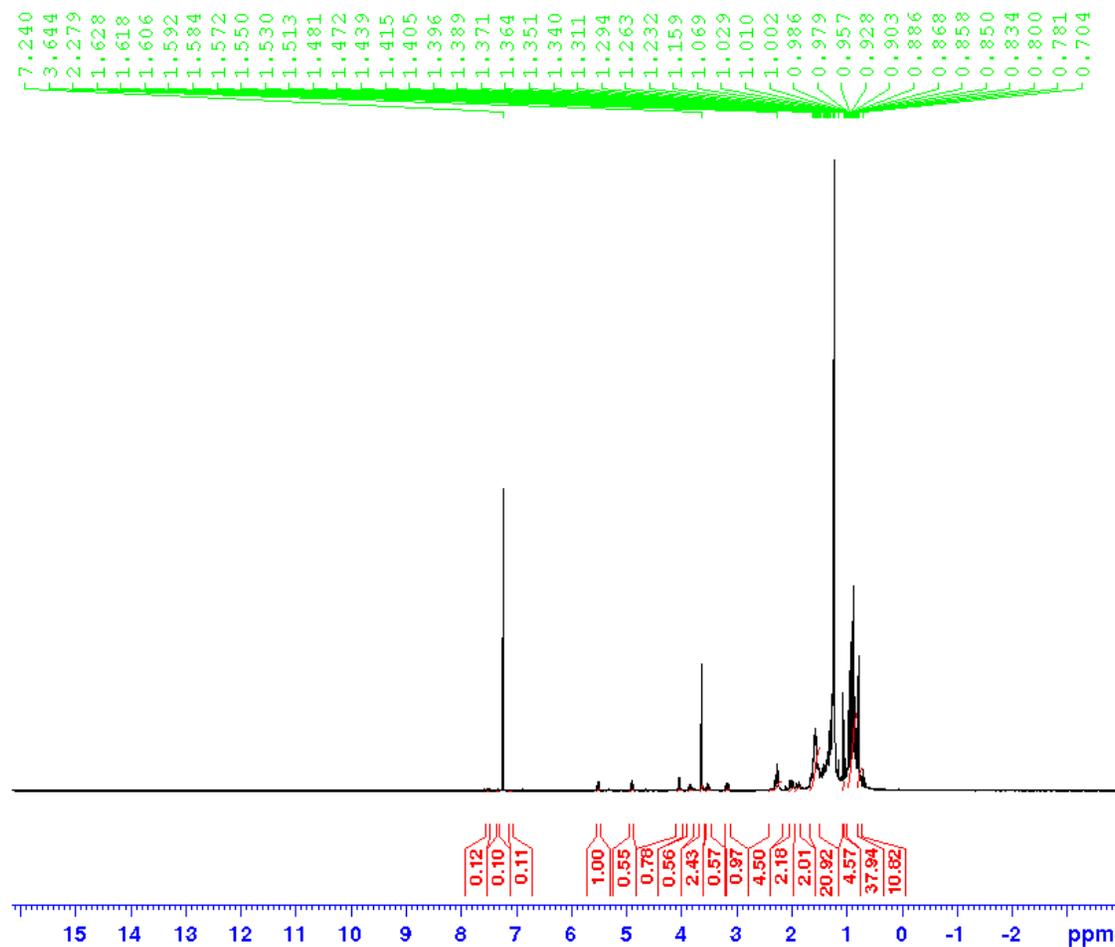
Anexo 40 Ampliación del espectro DEPT de RMN ¹³C del compuesto A entre 38ppm y 39ppm (CDCl₃, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT1 / CDCl3 / DEPT 135



Anexo 41 Ampliación del espectro DEPT de RMN ^{13}C del compuesto A entre 24ppm y 6ppm (CDCl_3 , 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT2 / CDCl3 / Protones



Current Data Parameters

NAME ucvmr-rht2
EXFNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20170405
Time 16.12
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP 1H/13
PULPROG zg30
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 256
DS 2
SWH 6009.615 Hz
FIDRES 0.091699 Hz
AQ 5.4525952 sec
RG 200.12
DW 83.200 usec
DE 6.50 usec
TE 298.2 K
D1 1.00000000 sec
TDO 1

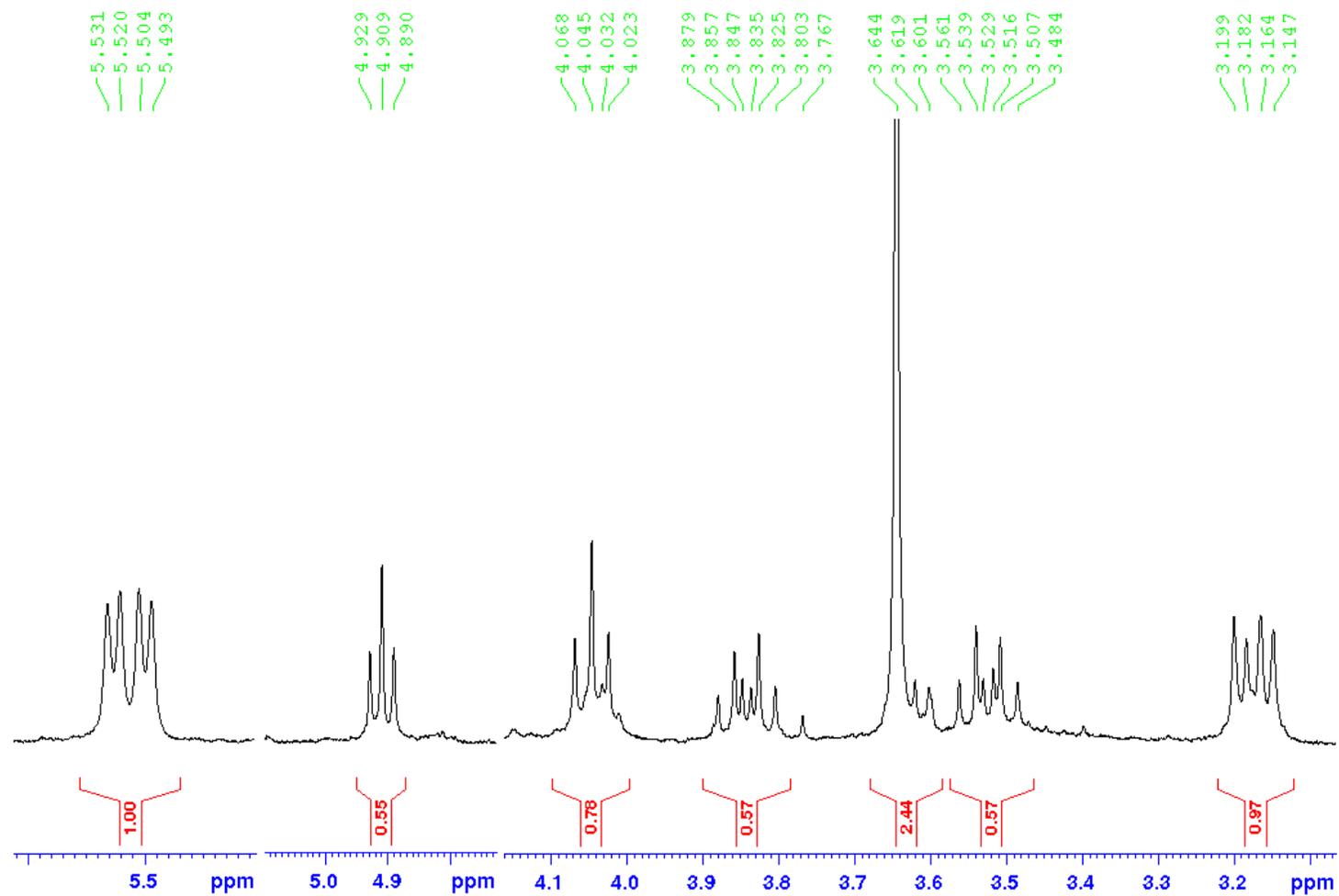
===== CHANNEL f1 =====

SFO1 300.2018539 MHz
NUC1 1H
P1 11.00 usec
PLW1 30.00000000 W

F2 - Processing parameters

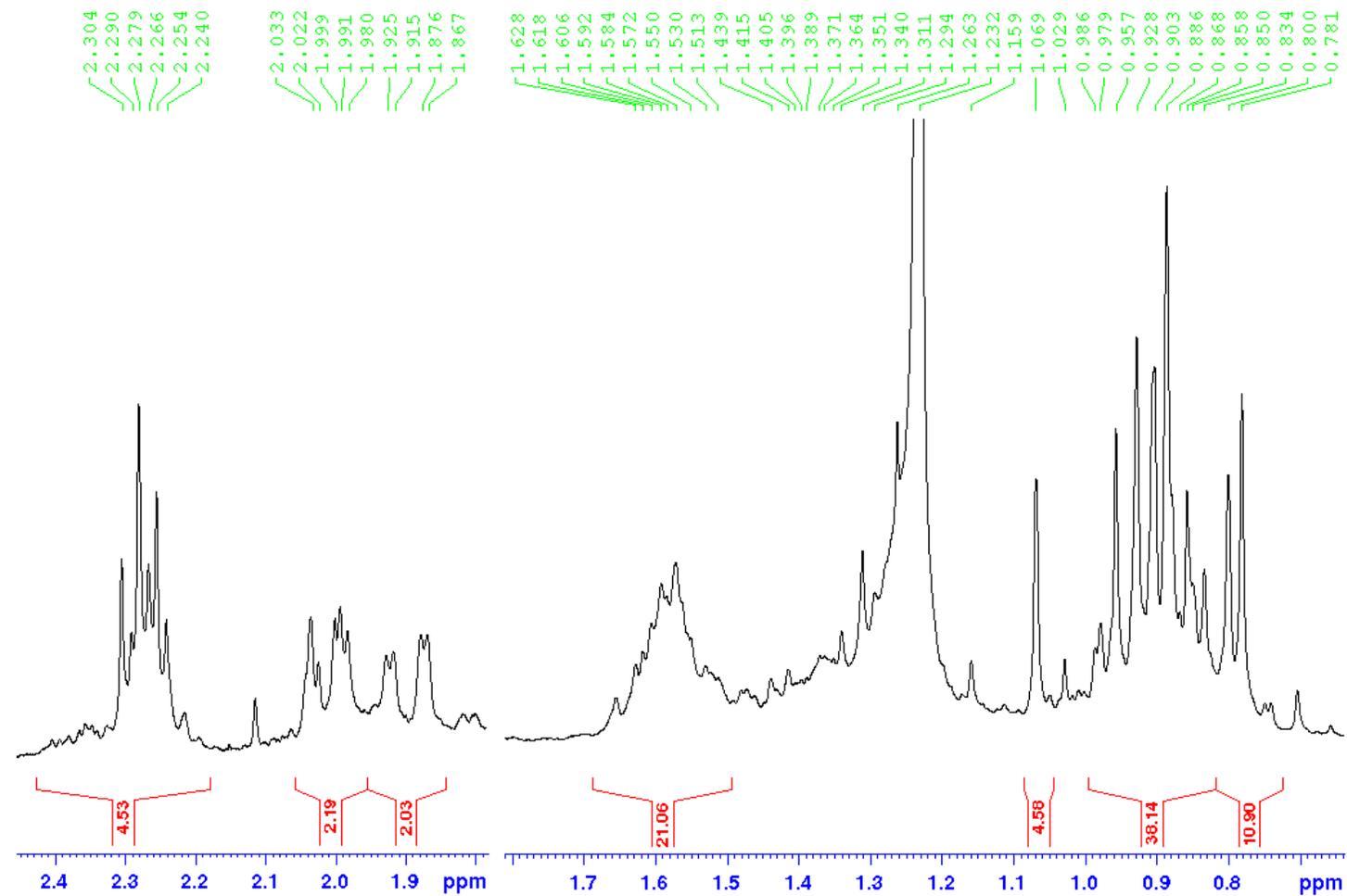
SI 65536
SF 300.2000131 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.00

Anexo 42 Espectro de RMN ^1H del compuesto B (CDCl_3 , 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT2 / CDCl₃ / Protones

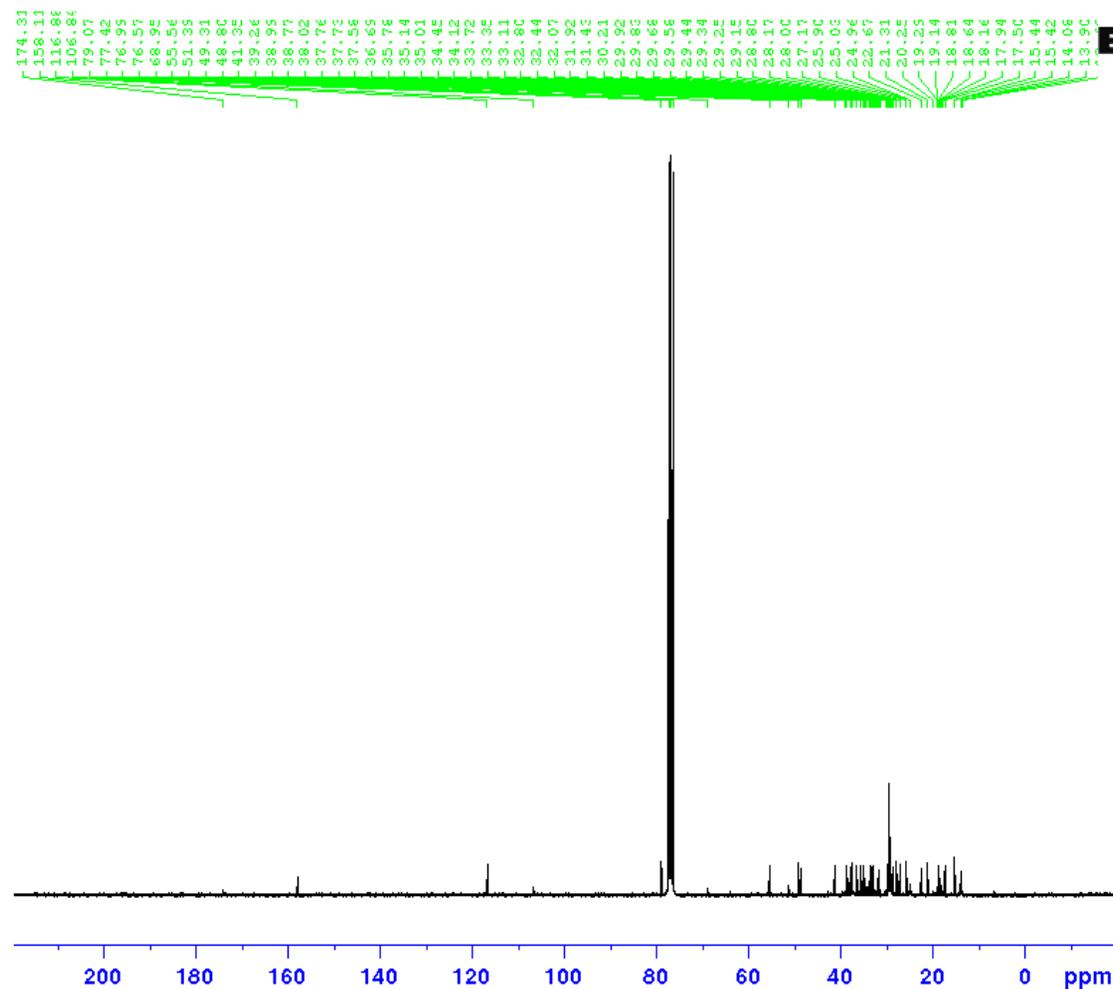
Anexo 43 Ampliación del Espectro de RMN ¹H del compuesto B entre 5.5ppm y 3.2ppm (CDCl₃, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT2 / CDC13 / Protones



Anexo 44 Ampliación del Espectro de RMN ¹H del compuesto B entre 2.4ppm y 0.8ppm (CDCl₃, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT2 / CDCl3 / Carbono



Current Data Parameters
 NAME ucvmr-rht2
 EXPNO 3
 PROCNO 1

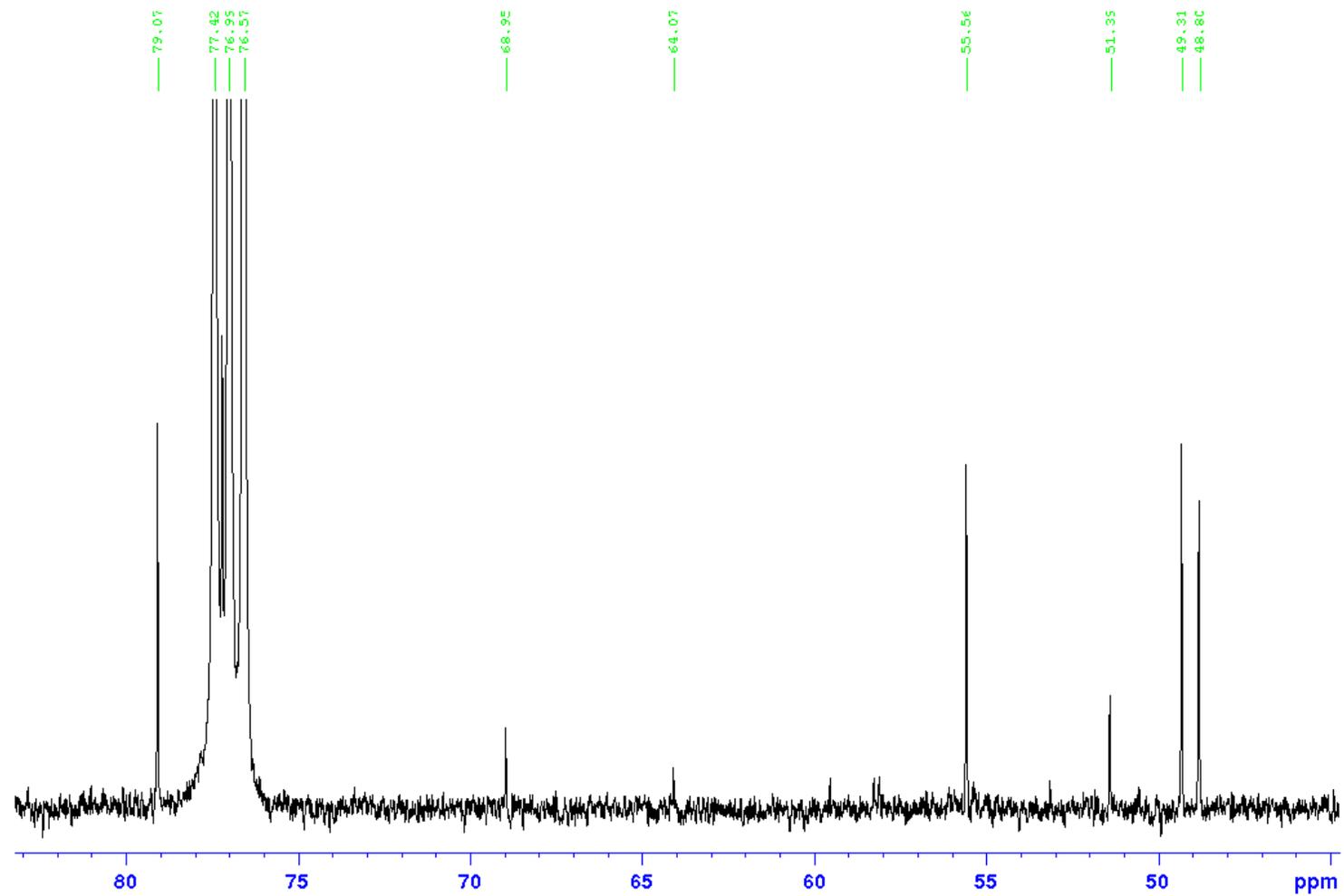
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20170510
 Time 15.55
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13
 PULPROG zgpg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 16034
 DS 4
 SWH 18028.846 Hz
 FIDRES 0.275098 Hz
 AQ 1.8175317 sec
 RG 200.12
 DW 27.733 usec
 DE 6.50 usec
 TE 298.7 K
 D1 2.00000000 sec
 D11 0.03000000 sec
 TD0 32

===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 75.4928982 MHz
 NUC1 13C
 P1 10.00 usec
 PLW1 30.00000000 W

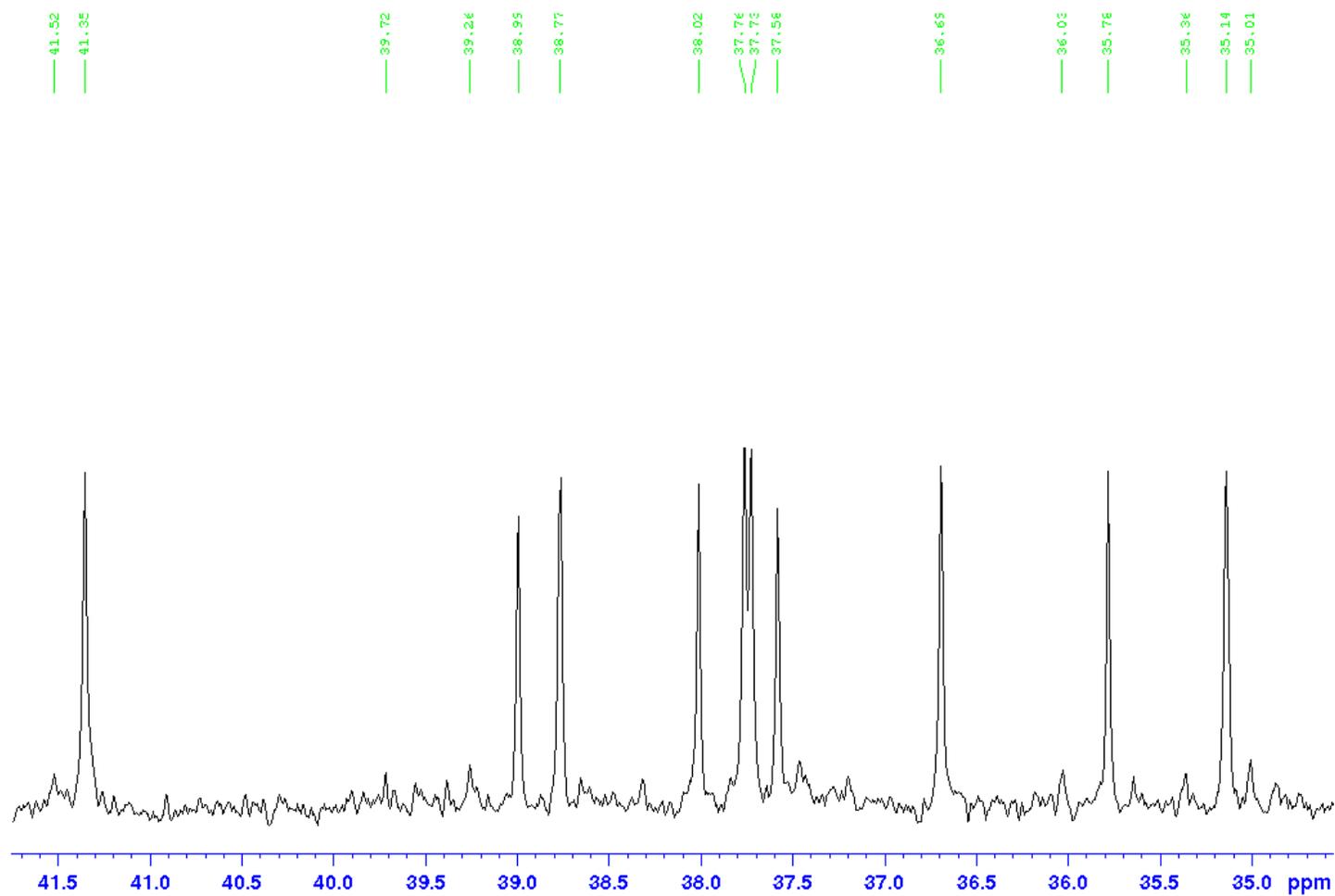
===== CHANNEL f2 =====
 SFO2 300.2012008 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG[2] waltz16
 PCPD2 90.00 usec
 PLW2 30.00000000 W
 PLW12 0.44815001 W
 PLW13 0.36300001 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4853500 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

Anexo 45 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto B (CDCl_3 , 75MHz).

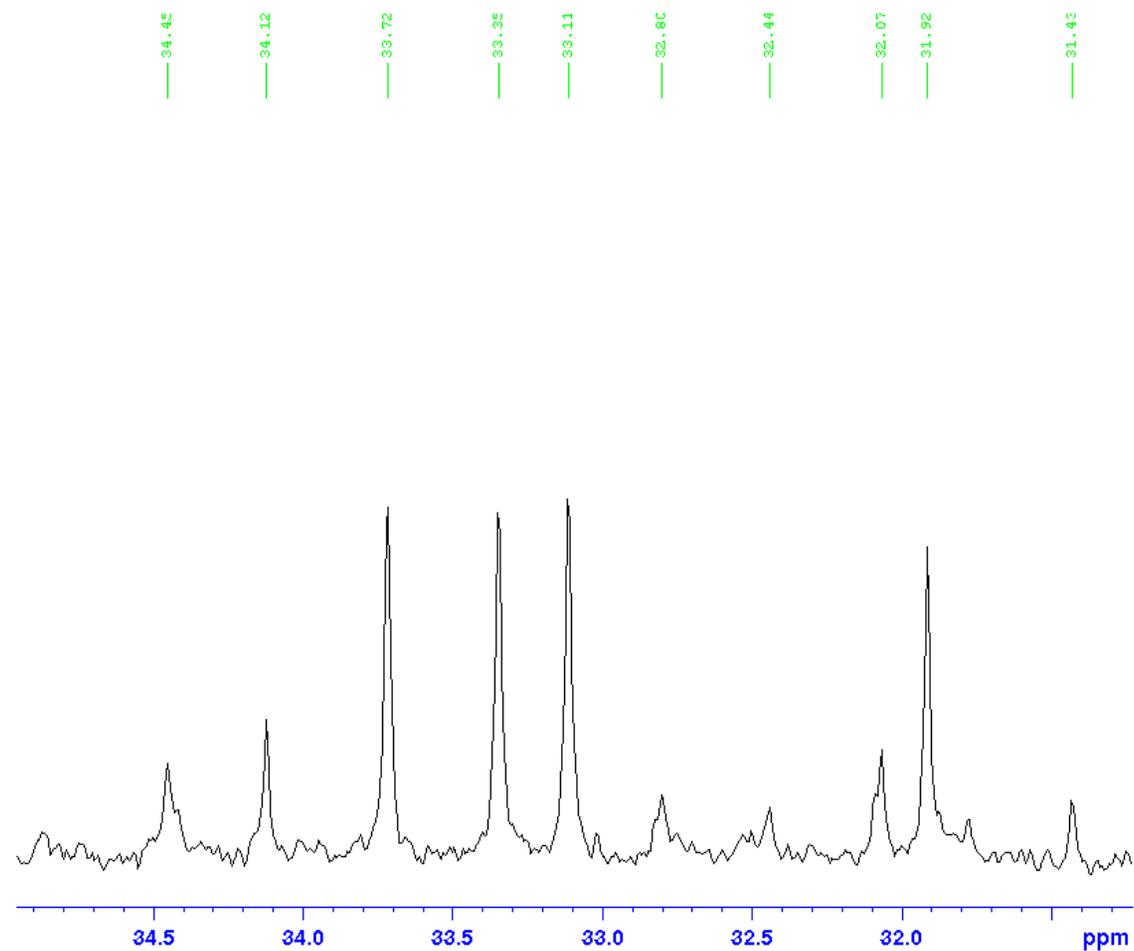
UCV / M. Rodriguez / RHT2 / CDCl₃ / Carbono

Anexo 46 Ampliación del Espectro de RMN ¹³C del compuesto B entre 80ppm y 50ppm (CDCl₃, 75MHz).

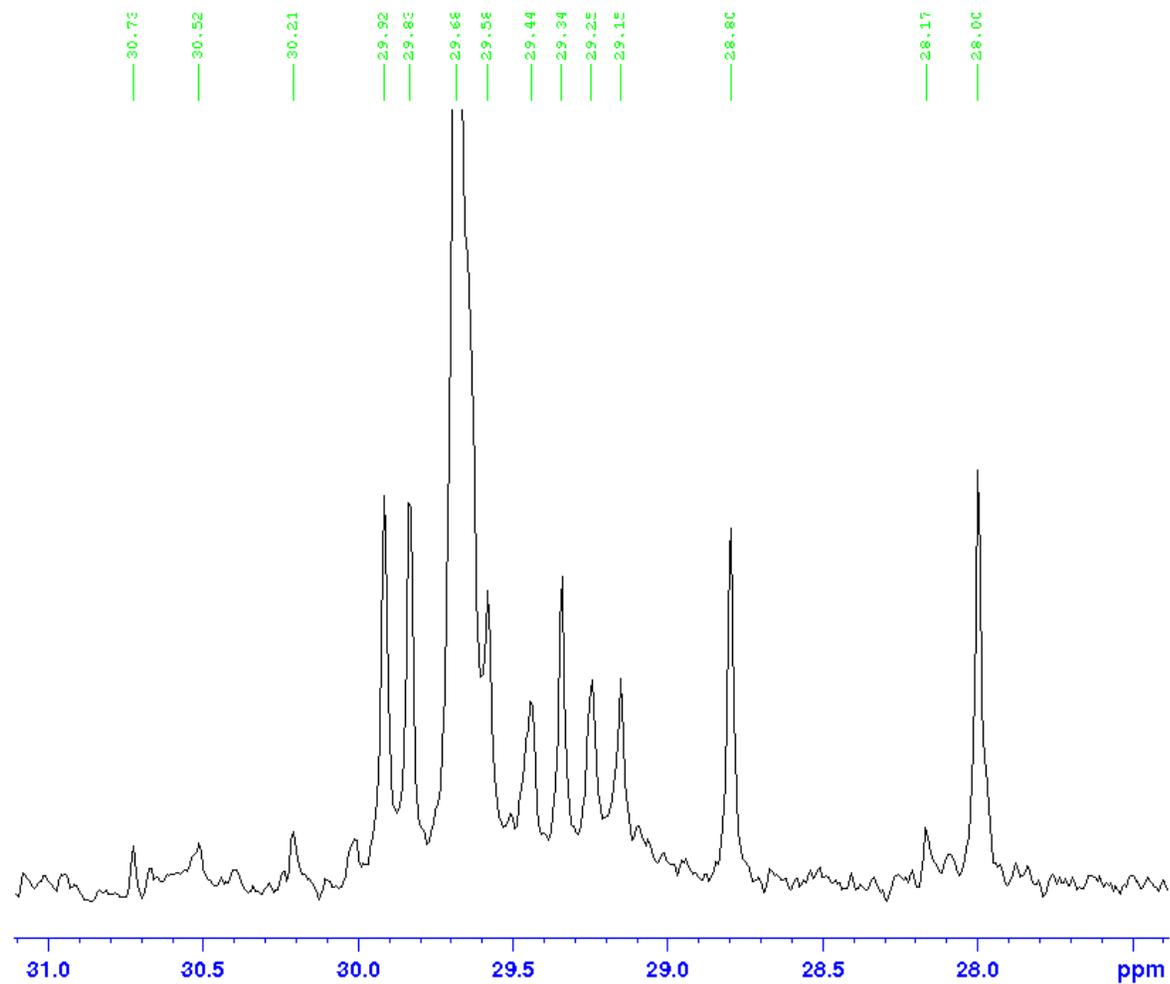
UCV / M. Rodriguez / RHT2 / CDCl₃ / Carbono

Anexo 47 Ampliación del Espectro de RMN ¹³C del compuesto B entre 42ppm y 35ppm (CDCl₃, 75MHz).

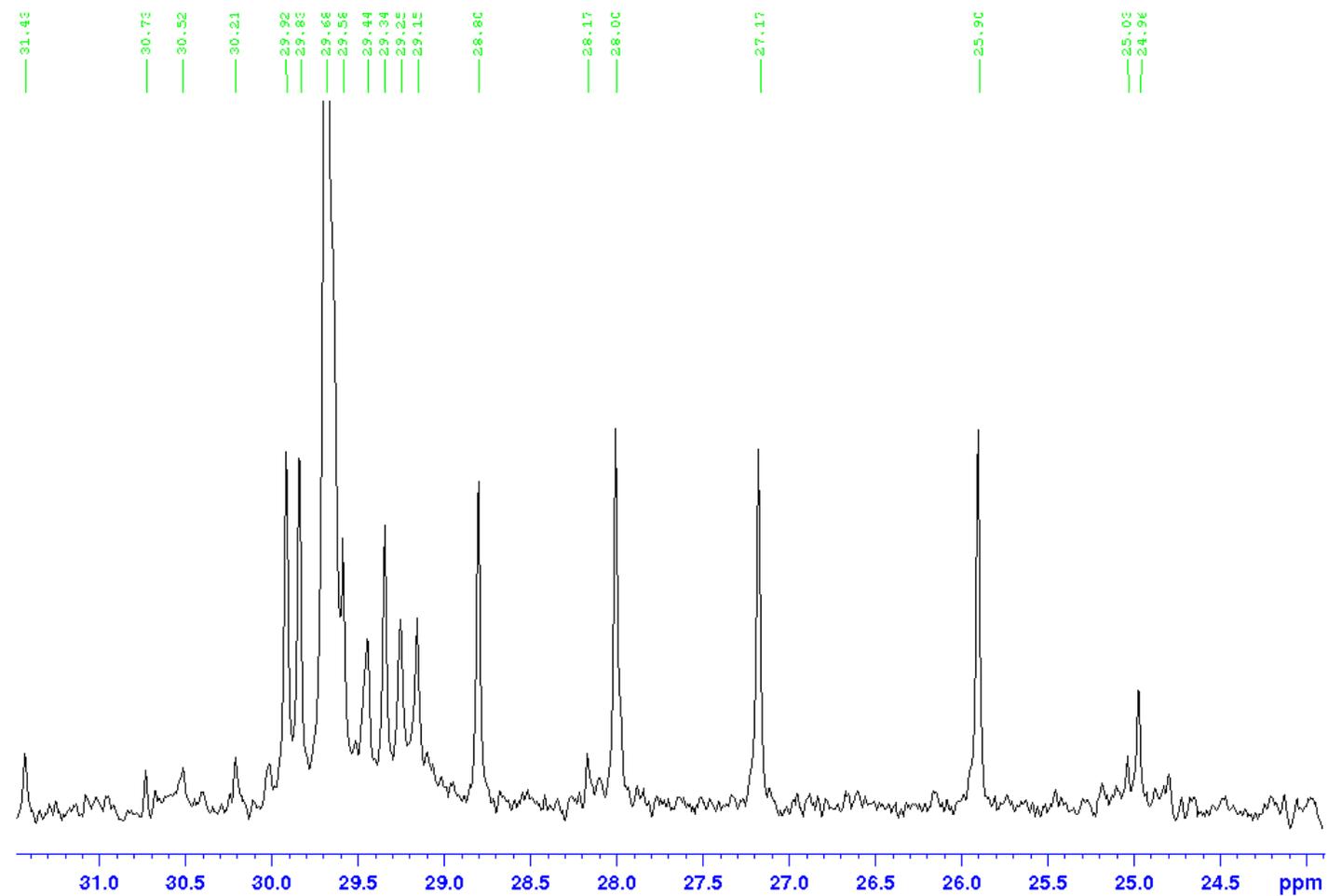
UCV / M. Rodriguez / RHT2 / CDCl₃ / Carbono



Anexo 48 Ampliación del Espectro de RMN ¹³C del compuesto B entre 34ppm y 31ppm (CDCl₃, 75MHz).

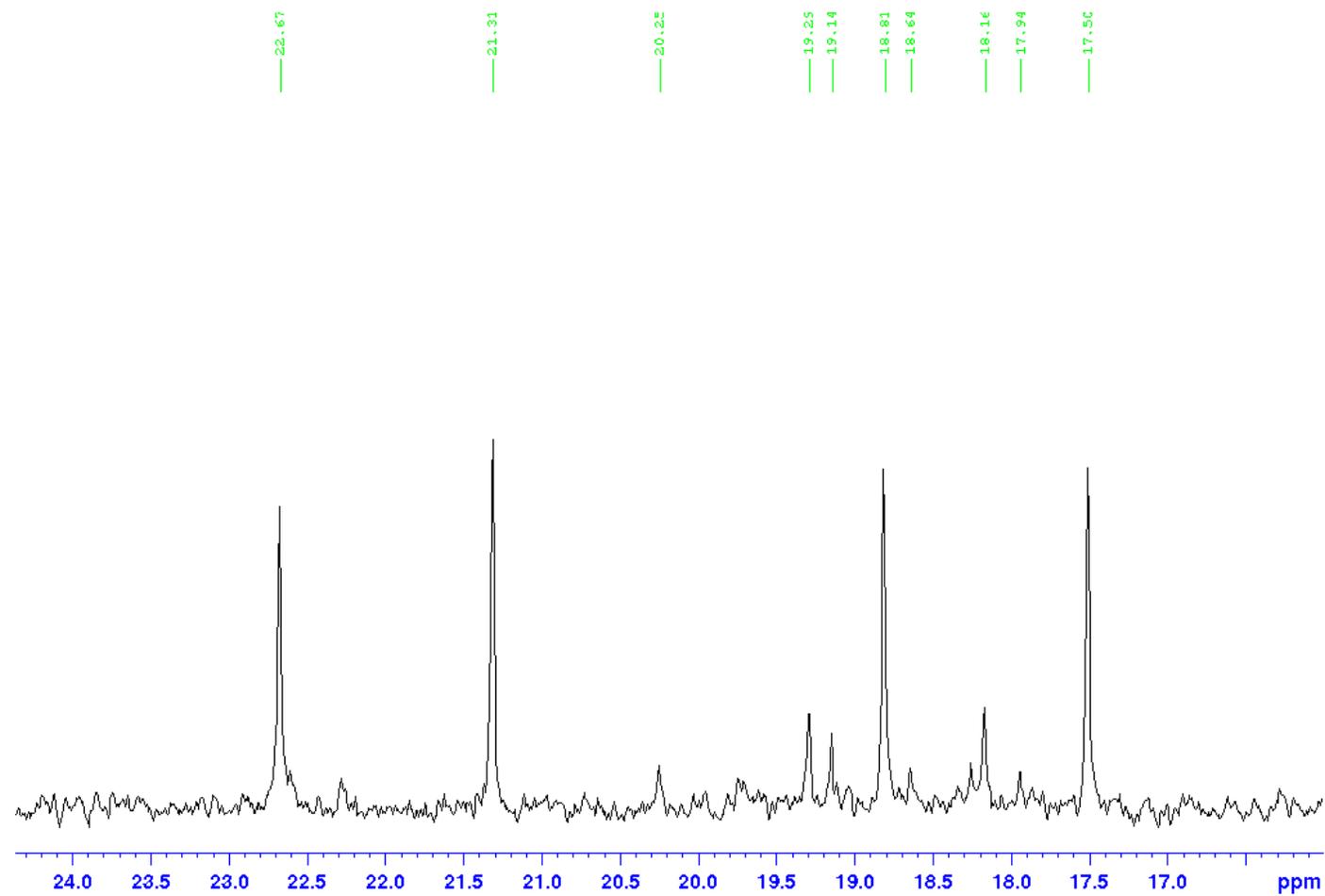
UCV / M. Rodriguez / RHT2 / CDCl₃ / Carbono

Anexo 49 Ampliación del Espectro de RMN ¹³C del compuesto B entre 31ppm y 27ppm (CDCl₃, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT2 / CDCl₃ / Carbono

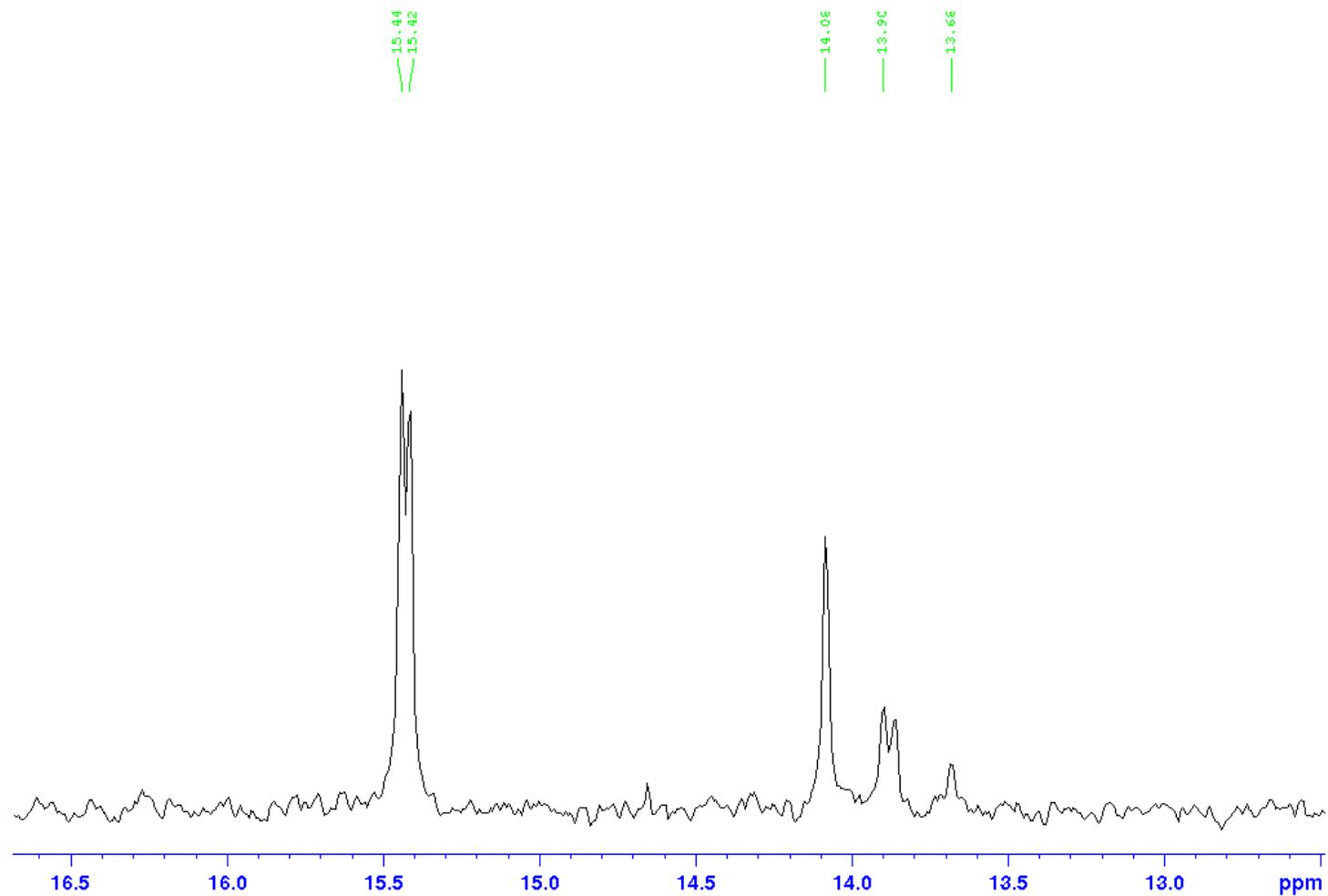
Anexo 50 Ampliación del Espectro de RMN ¹³C del compuesto B entre 31ppm y 23ppm (CDCl₃, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT2 / CDCl₃ / Carbono



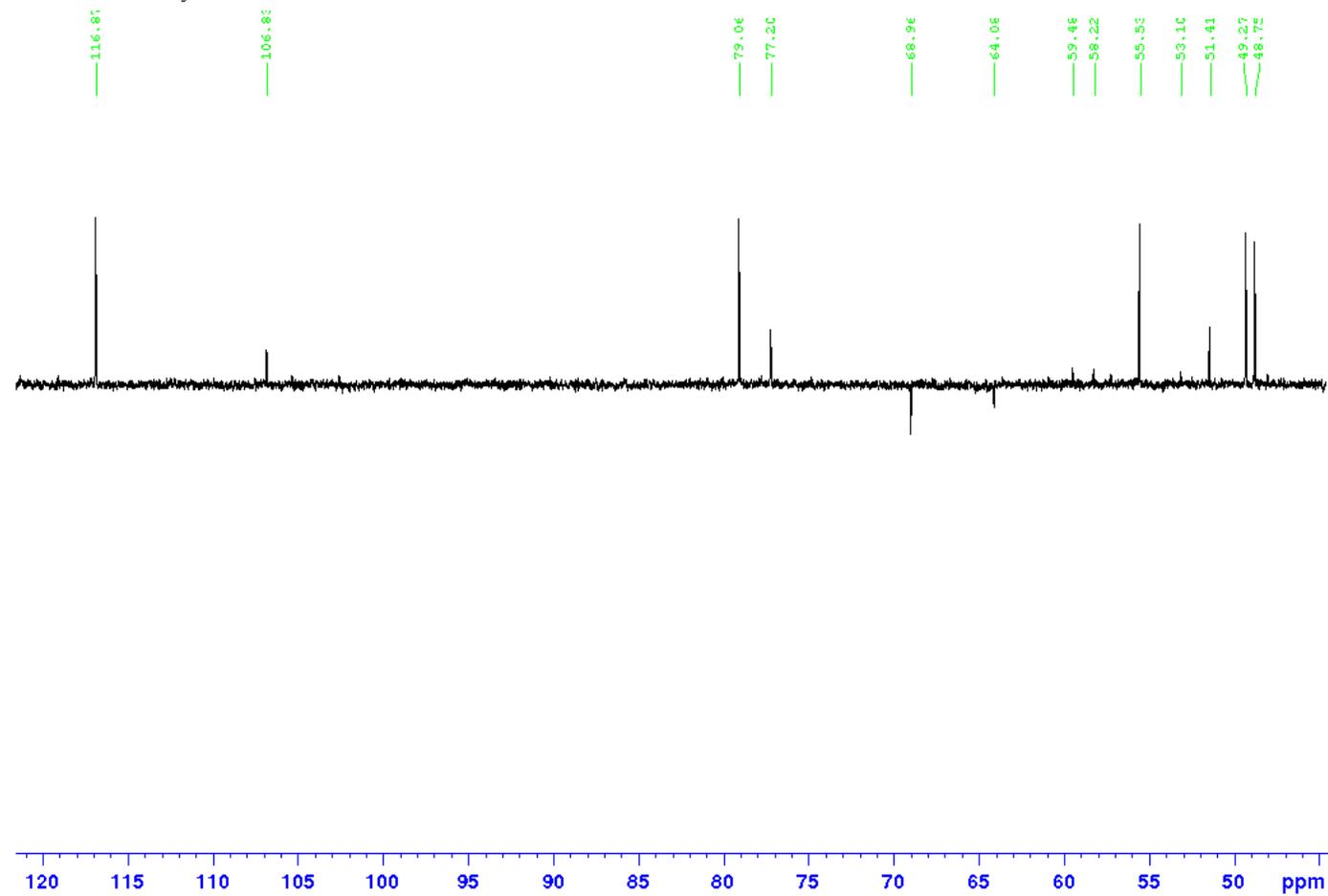
Anexo 51 Ampliación del Espectro de RMN ¹³C del compuesto B entre 24ppm y 16ppm (CDCl₃, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT2 / CDCl₃ / Carbono

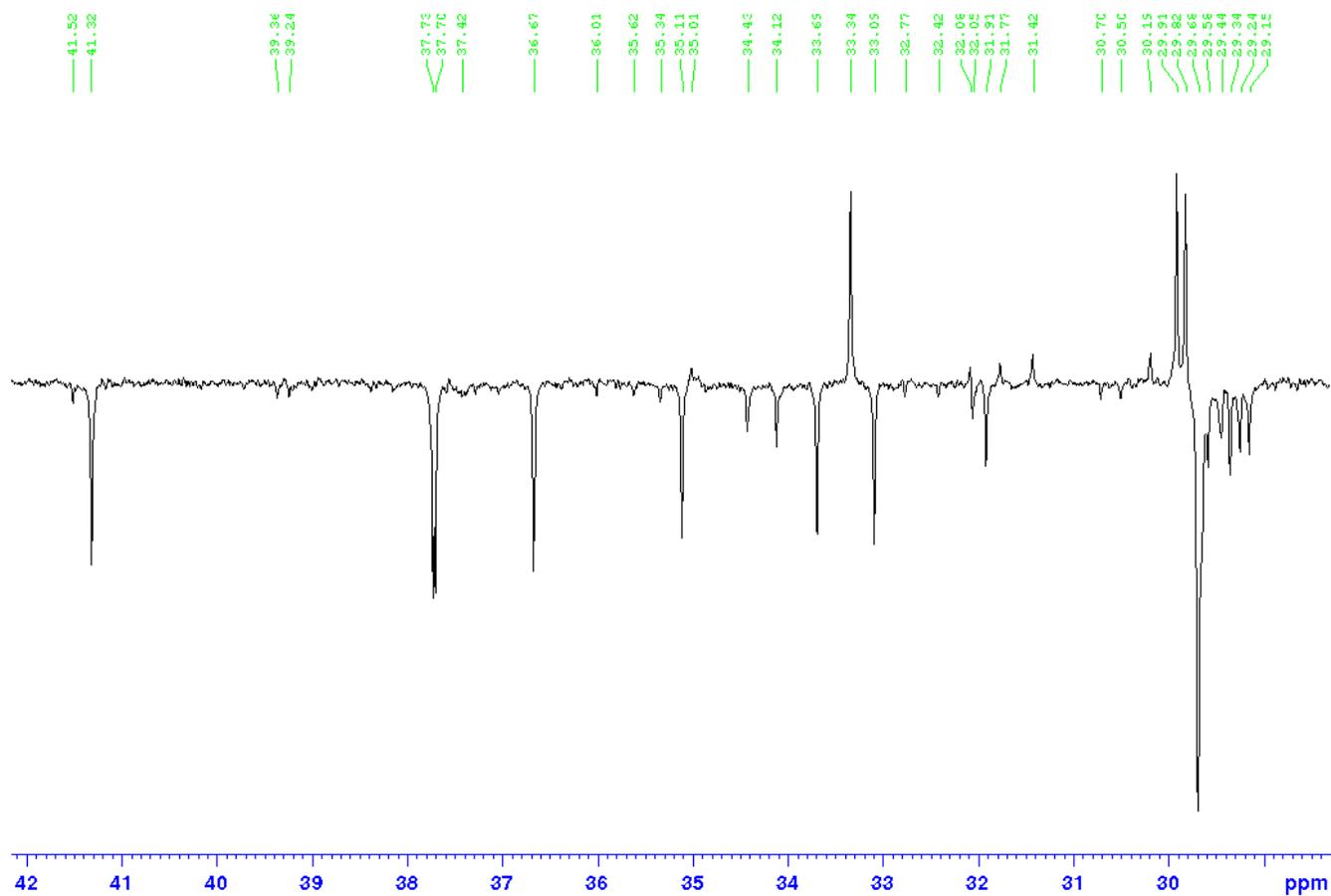


Anexo 52 Ampliación del Espectro de RMN ¹³C del compuesto B entre 17ppm y 13ppm (CDCl₃, 75MHz).

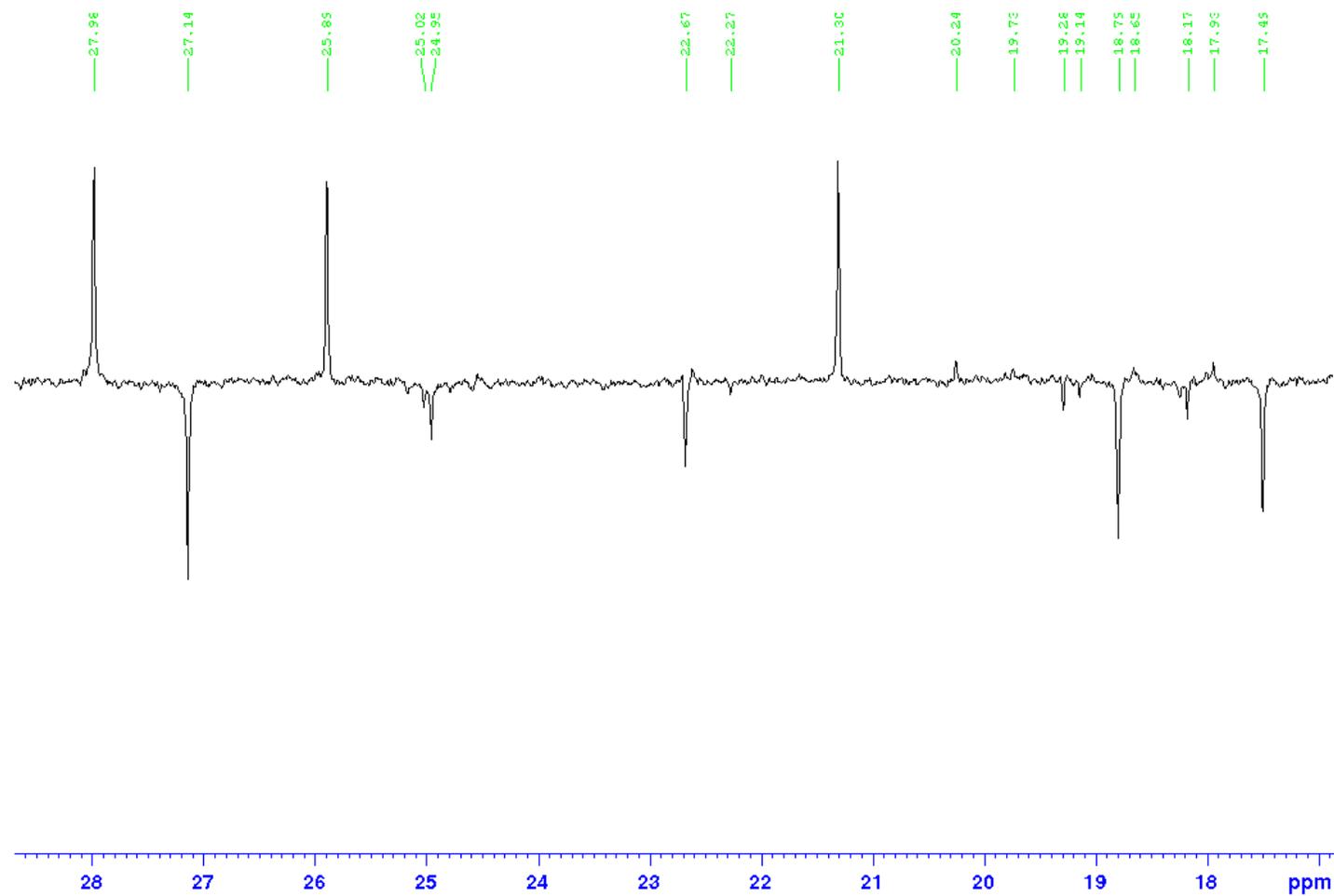
UCV / M. Rodriguez / RHT2 / CDCl3 / DEPT 135



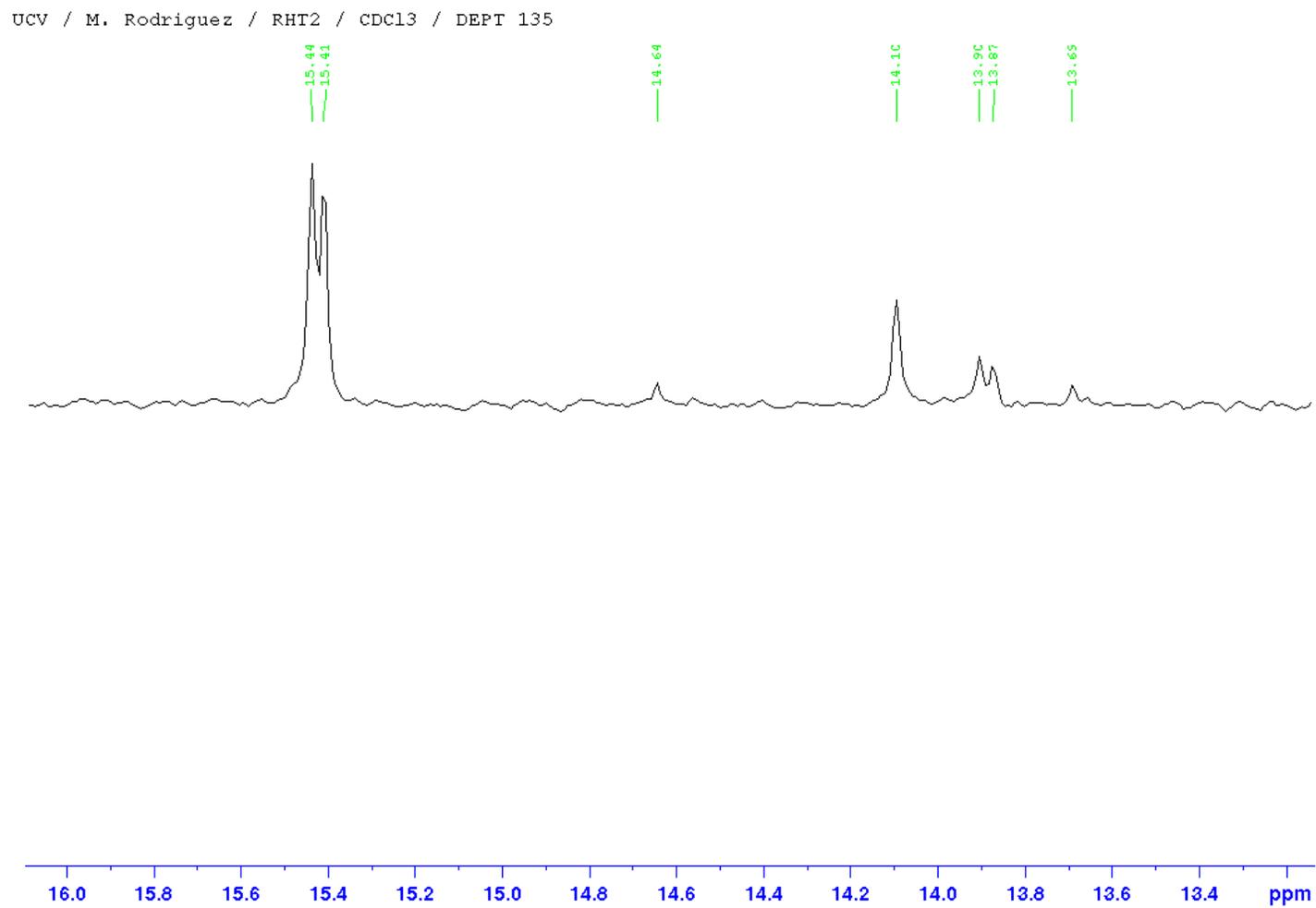
Anexo 54 Ampliación del Espectro DEPT 135 de RMN ^{13}C del compuesto B entre 120ppm y 50ppm (CDCl_3 , 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT2 / CDCl₃ / DEPT 135

Anexo 55 Ampliación del Espectro DEPT 135 de RMN ¹³C del compuesto B entre 42ppm y 30ppm (CDCl₃, 75MHz).

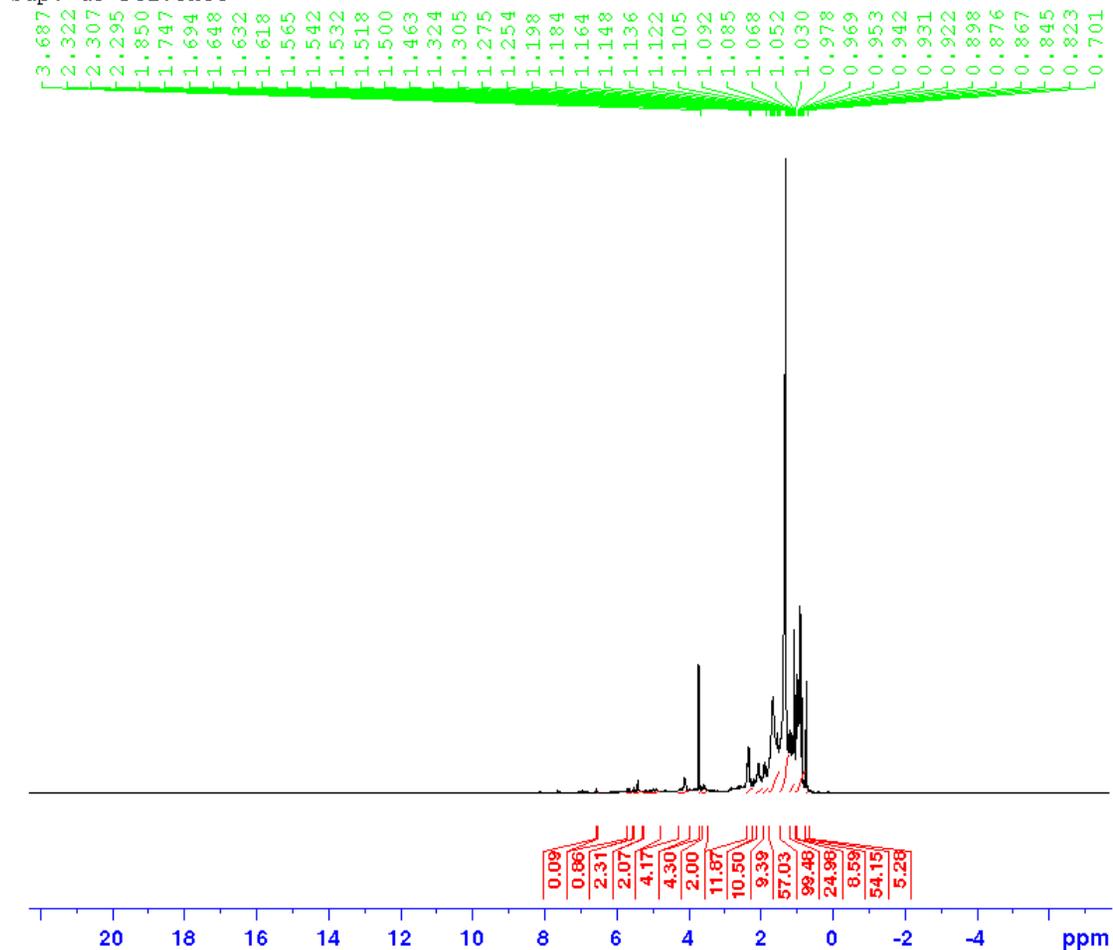
UCV / M. Rodriguez / RHT2 / CDCl₃ / DEPT 135

Anexo 56 Ampliación del Espectro DEPT 135 de RMN ¹³C del compuesto B entre 28ppm y 18ppm (CDCl₃, 75MHz).



Anexo 57 Ampliación del Espectro DEPT 135 de RMN ¹³C del compuesto B entre 16ppm y 13ppm (CDCl₃, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT3 / CDCl₃ / Protones
Sup. de solvente



```

Current Data Parameters
NAME          ucvmr-rht3
EXPNO         11
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20170829
Time          13.09
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm QNP 1H/13
PULPROG       noesygpr1d
ID            32768
SOLVENT       CDCl3
NS            1816
DS            4
SWH           9009.009 Hz
FIDRES        0.274933 Hz
AQ            1.8186240 sec
RG            200.12
DW            55.500 usec
DE            10.50 usec
TE            297.9 K
D1            2.00000000 sec
D8            0.01000000 sec
D12           0.00002000 sec
D16           0.00020000 sec
TD0           2
ZGPGPINS

----- CHANNEL f1 -----
SFO1          300.2021866 MHz
NUC1           1H
P0             11.00 usec
P1             11.00 usec
PLW1          30.00000000 W
PLW9          0.00014520 W

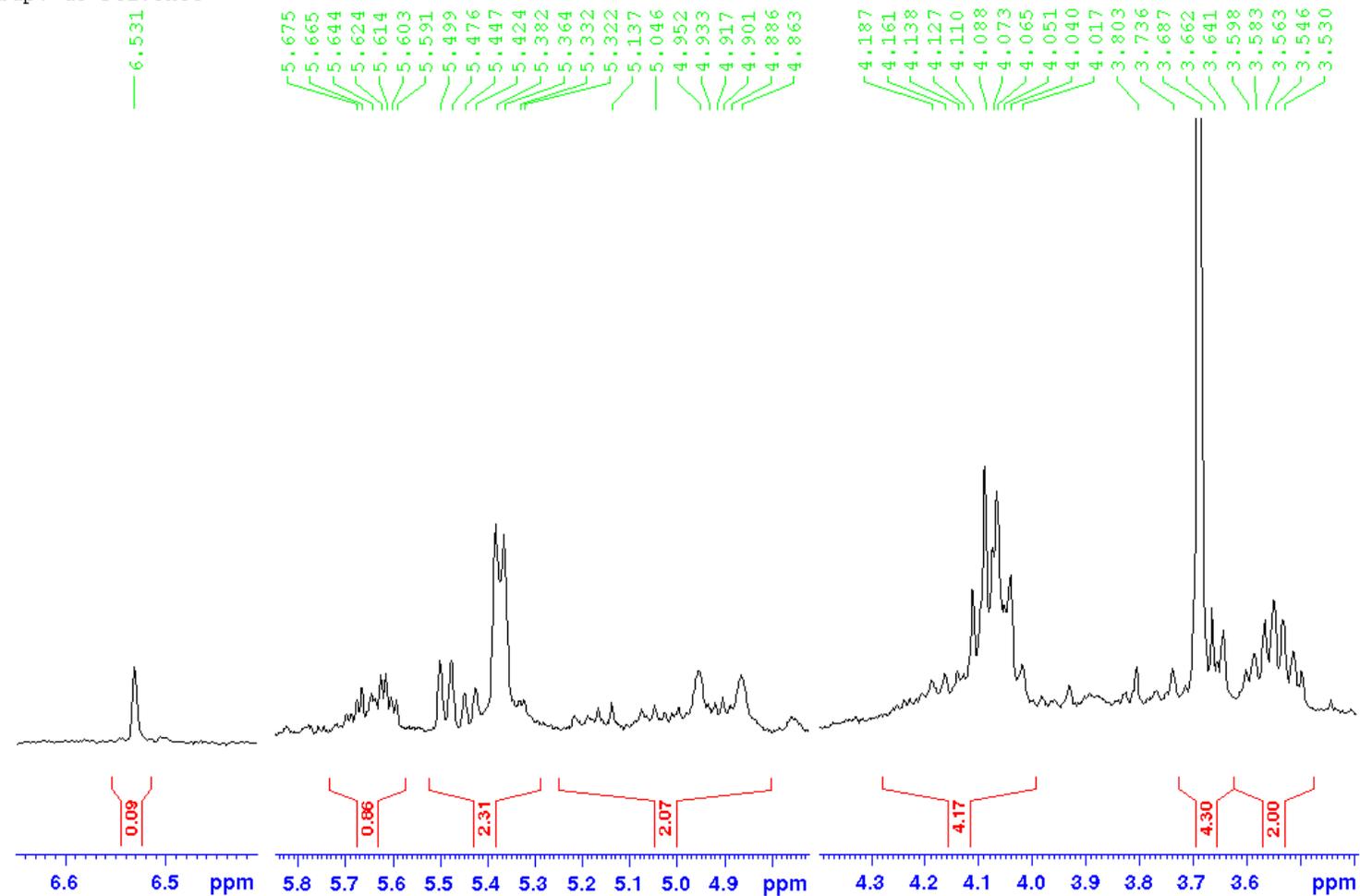
----- GRADIENT CHANNEL -----
GPNAM[1]      SMSq10.100
GPNAM[2]      SMSq10.100
GP21          50.00 %
GP22         -10.00 %
P16           1000.00 usec

F2 - Processing parameters
SI            16384
SF            300.2000000 MHz
WDW           no
SSB           0
LB            0 Hz
GB            0
PC            1.00

```

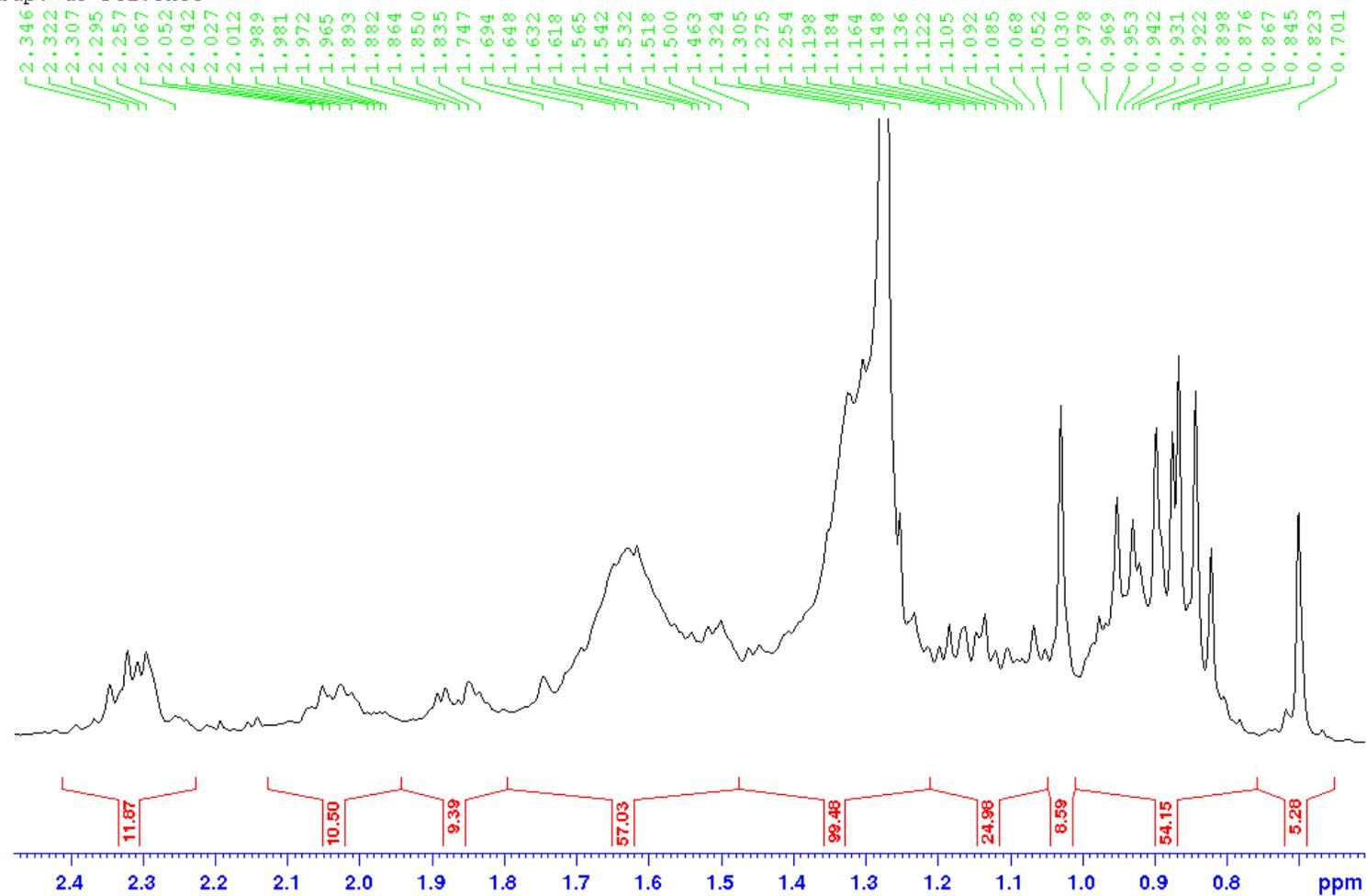
Anexo 58 Espectro de RMN ¹H del compuesto C (CDCl₃, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT3 / CDCl₃ / Protones
 Sup. de solvente



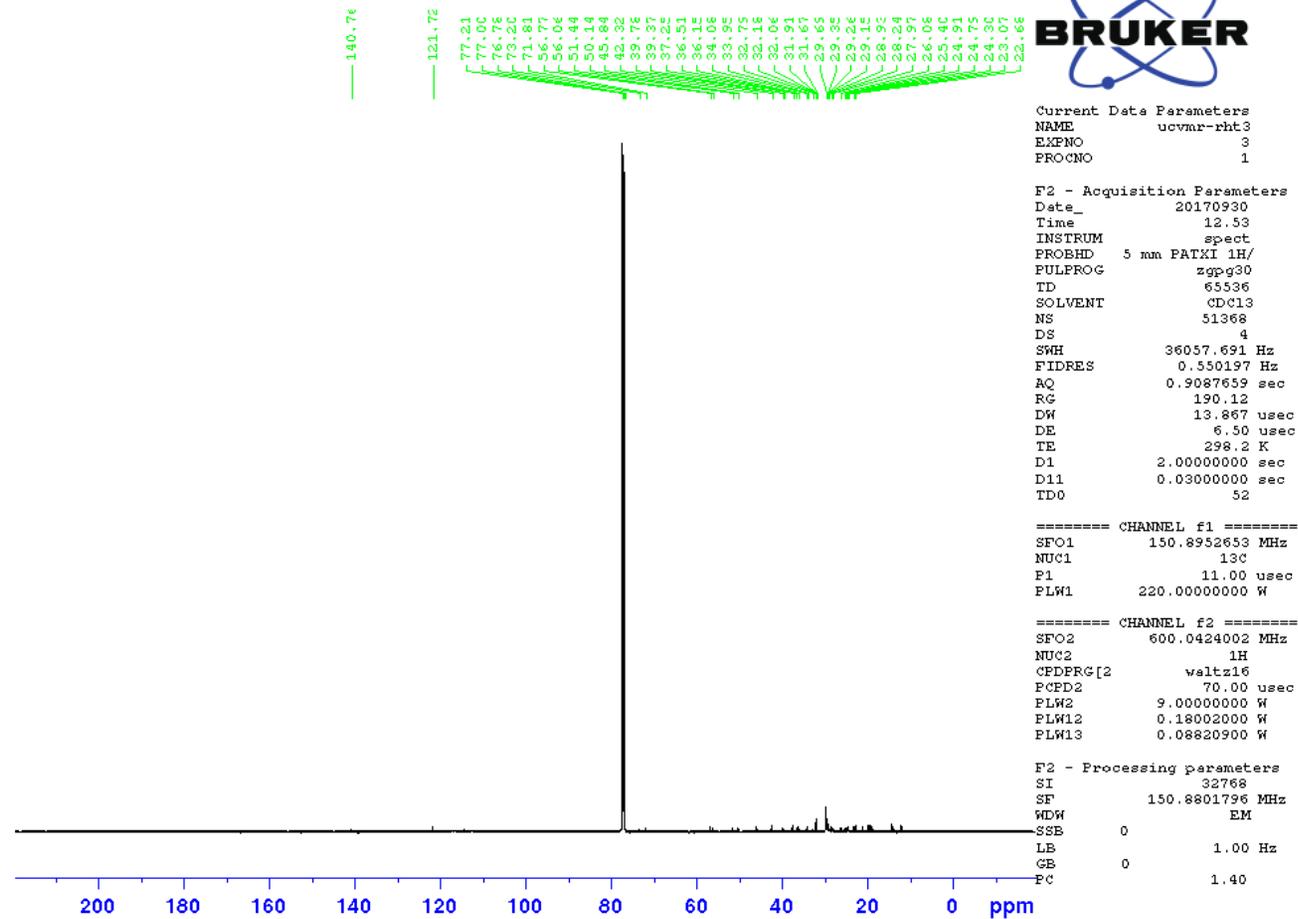
Anexo 59 Ampliación del Espectro de RMN ¹H del compuesto C entre 6,7ppm y 3,6ppm (CDCl₃, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT3 / CDCl₃ / Protones
 Sup. de solvente

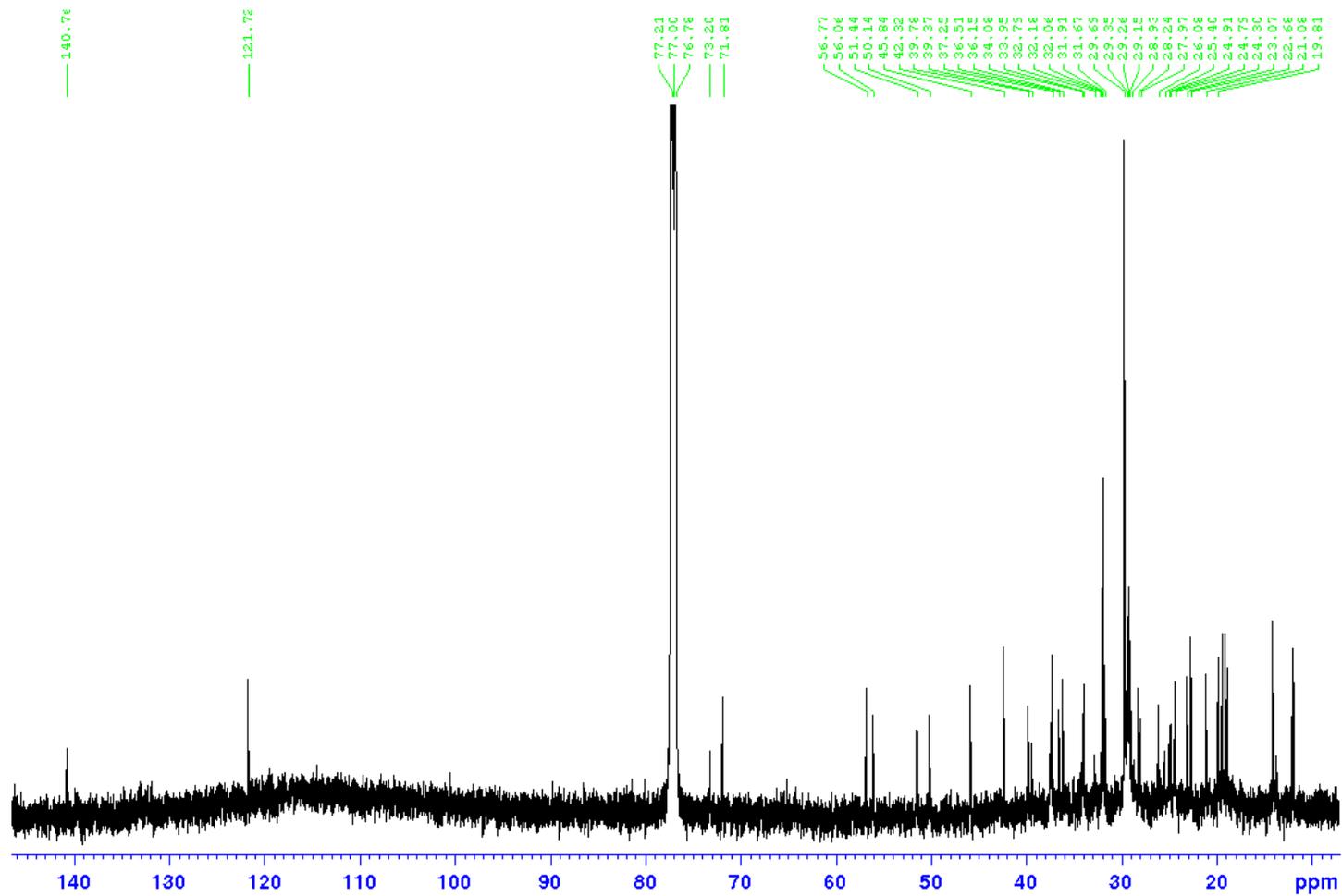


Anexo 60 Espectro de RMN ¹H del compuesto C entre 2.4ppm y 0.8ppm (CDCl₃, 300MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT3 / CDCl3 / Carbono

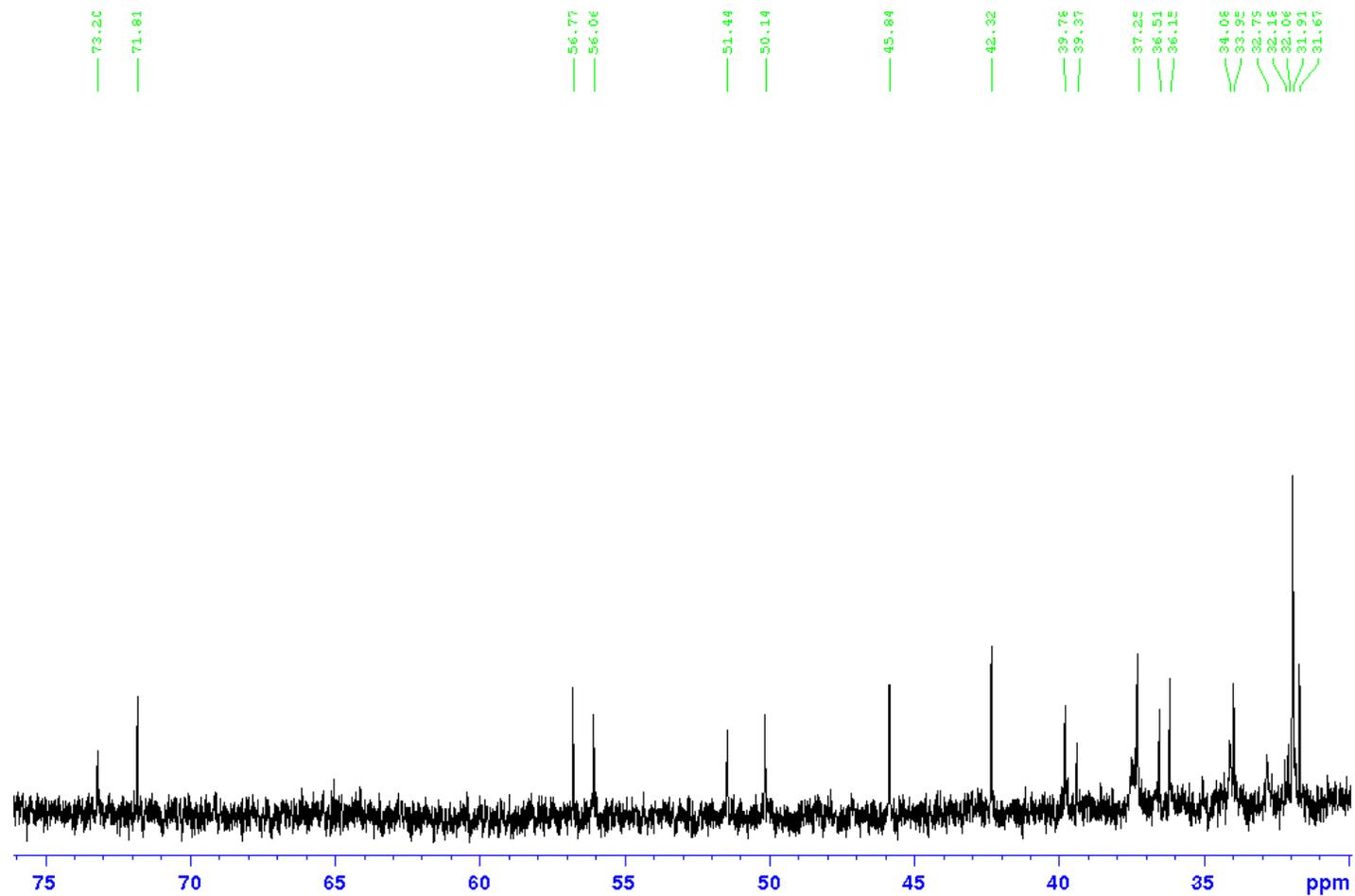
Anexo 61 Espectro de RMN ^{13}C del compuesto C (CDCl_3 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT3 / CDCl3 / Carbono

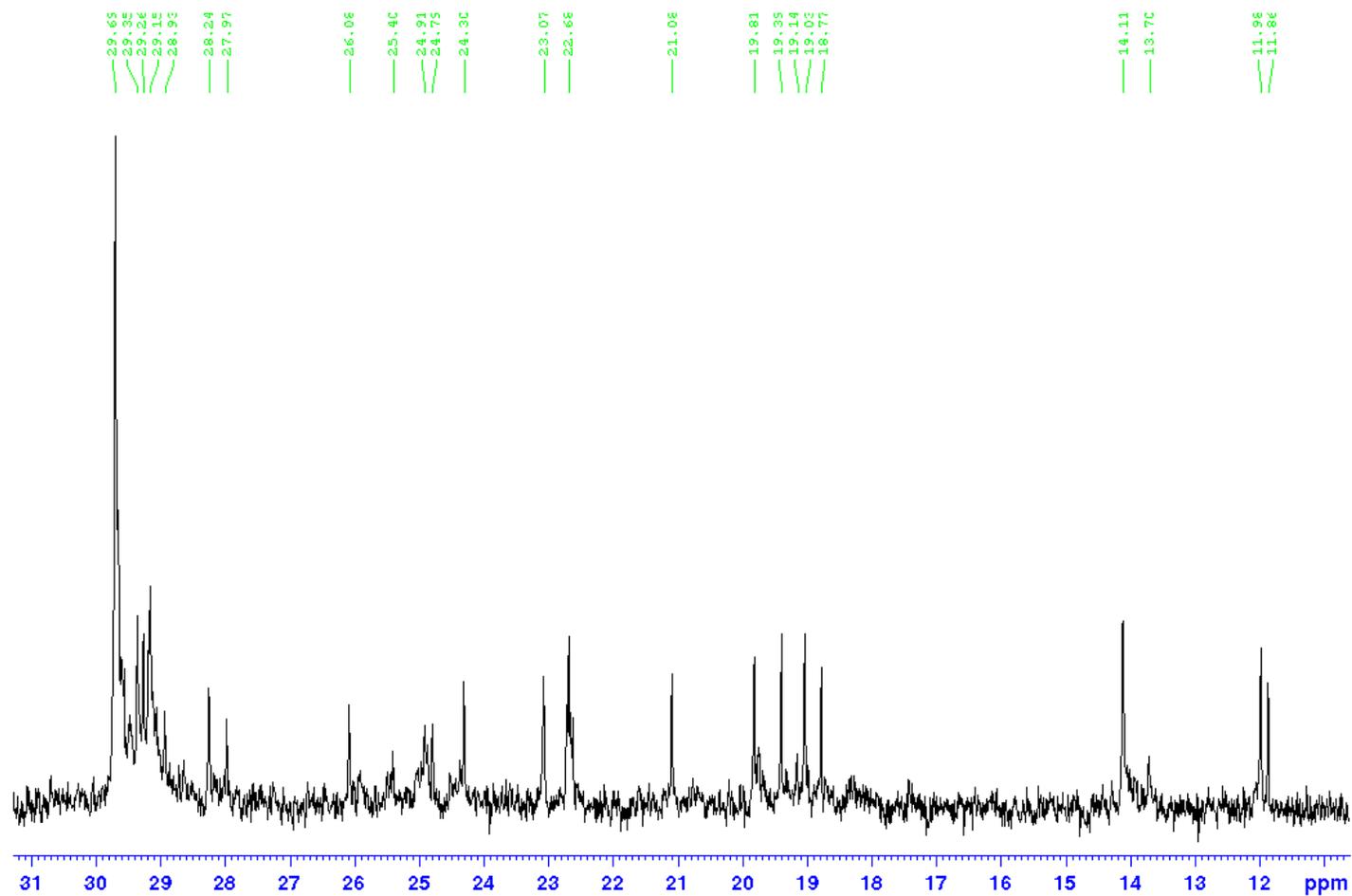


Anexo 62 Ampliación del Espectro de RMN ^{13}C del compuesto C entre 140ppm y 10ppm (CDCl_3 , 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT3 / CDCl₃ / Carbono

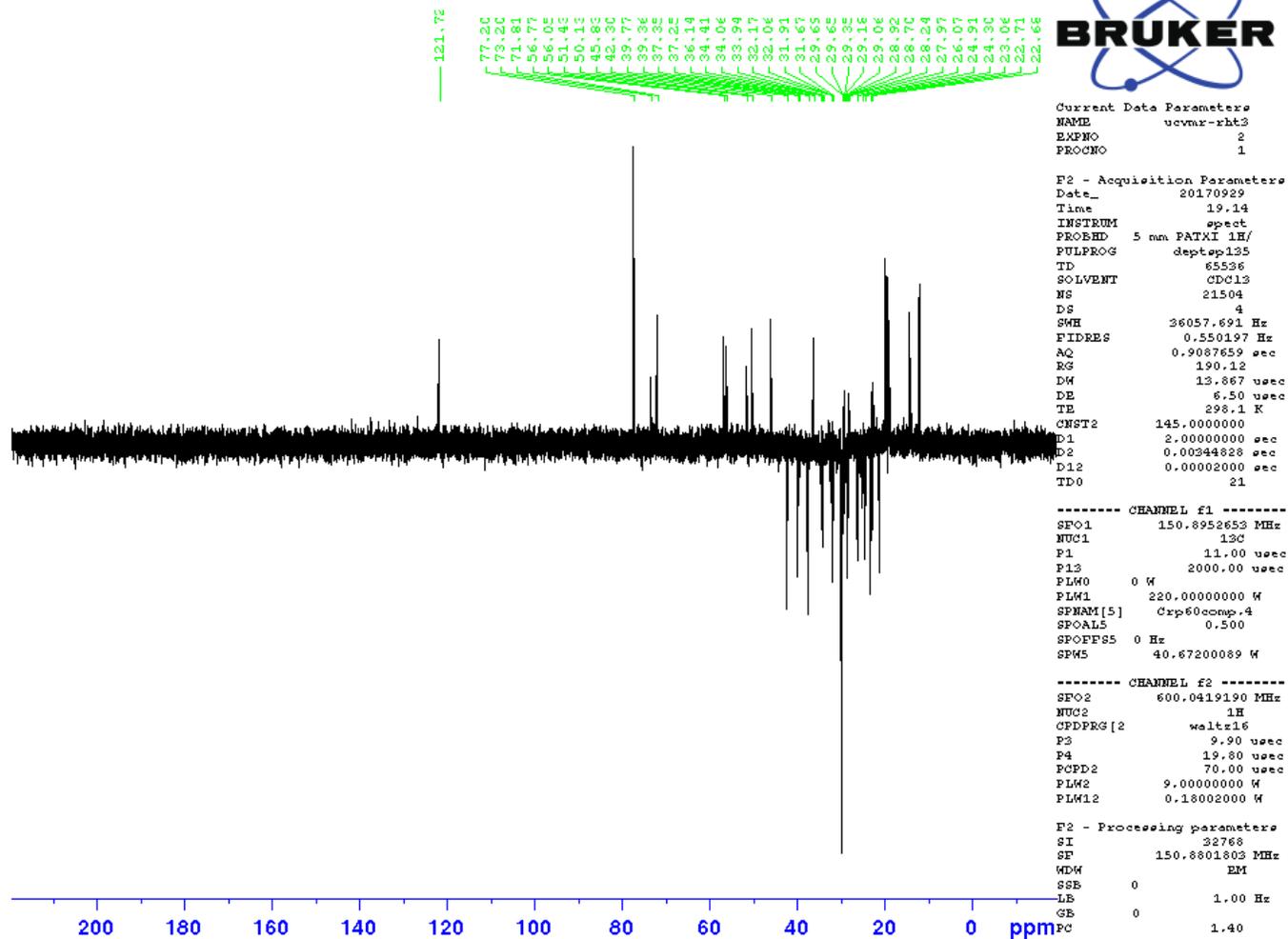


Anexo 63 Ampliación del Espectro de RMN ¹³C del compuesto C entre 75ppm y 30ppm (CDCl₃, 75MHz).

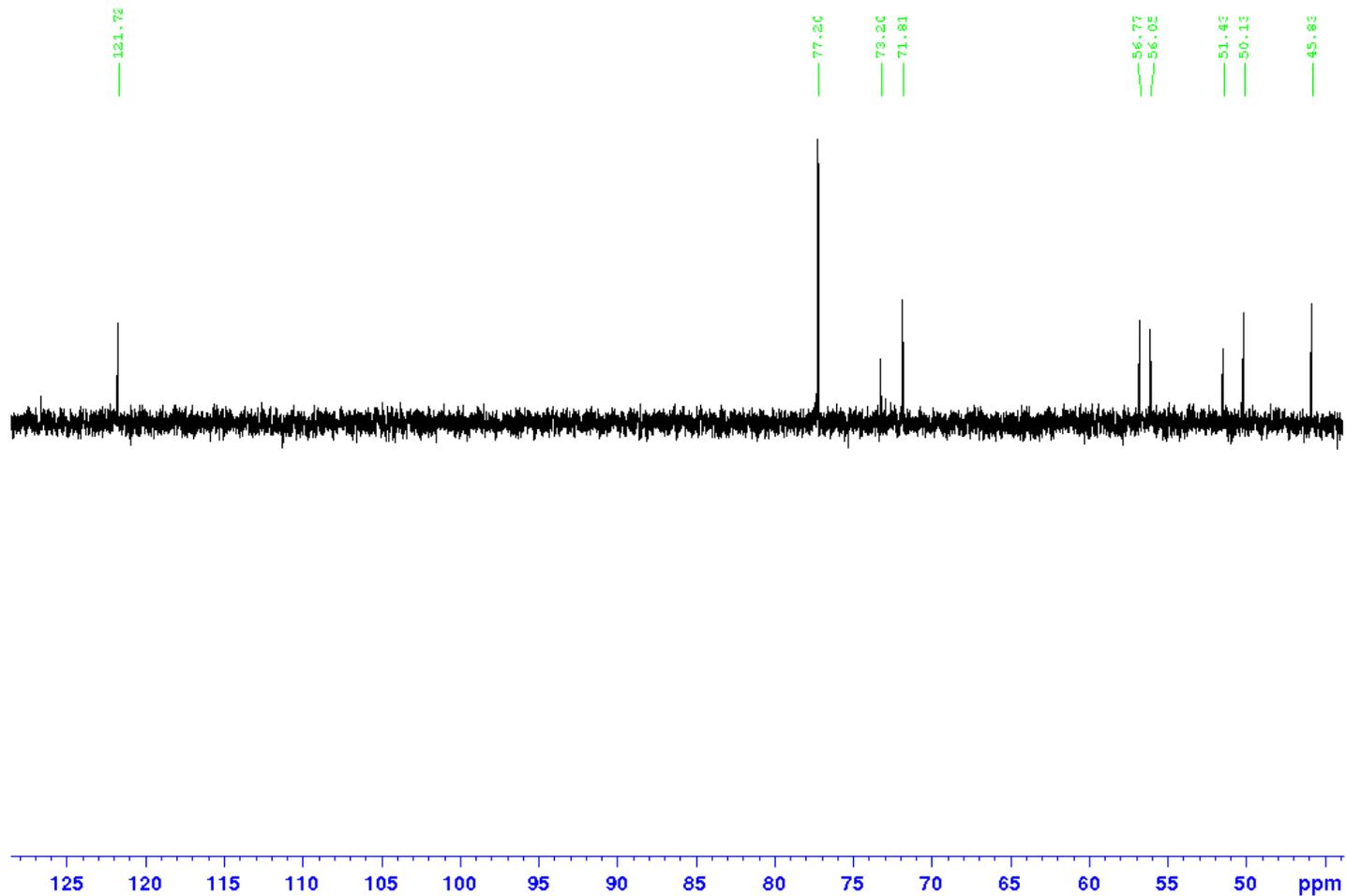
UCV / M. Rodriguez / RHT3 / CDCl₃ / Carbono

Anexo 64 Ampliación del Espectro de RMN ¹³C del compuesto C entre 32ppm y 10ppm (CDCl₃, 75MHz).

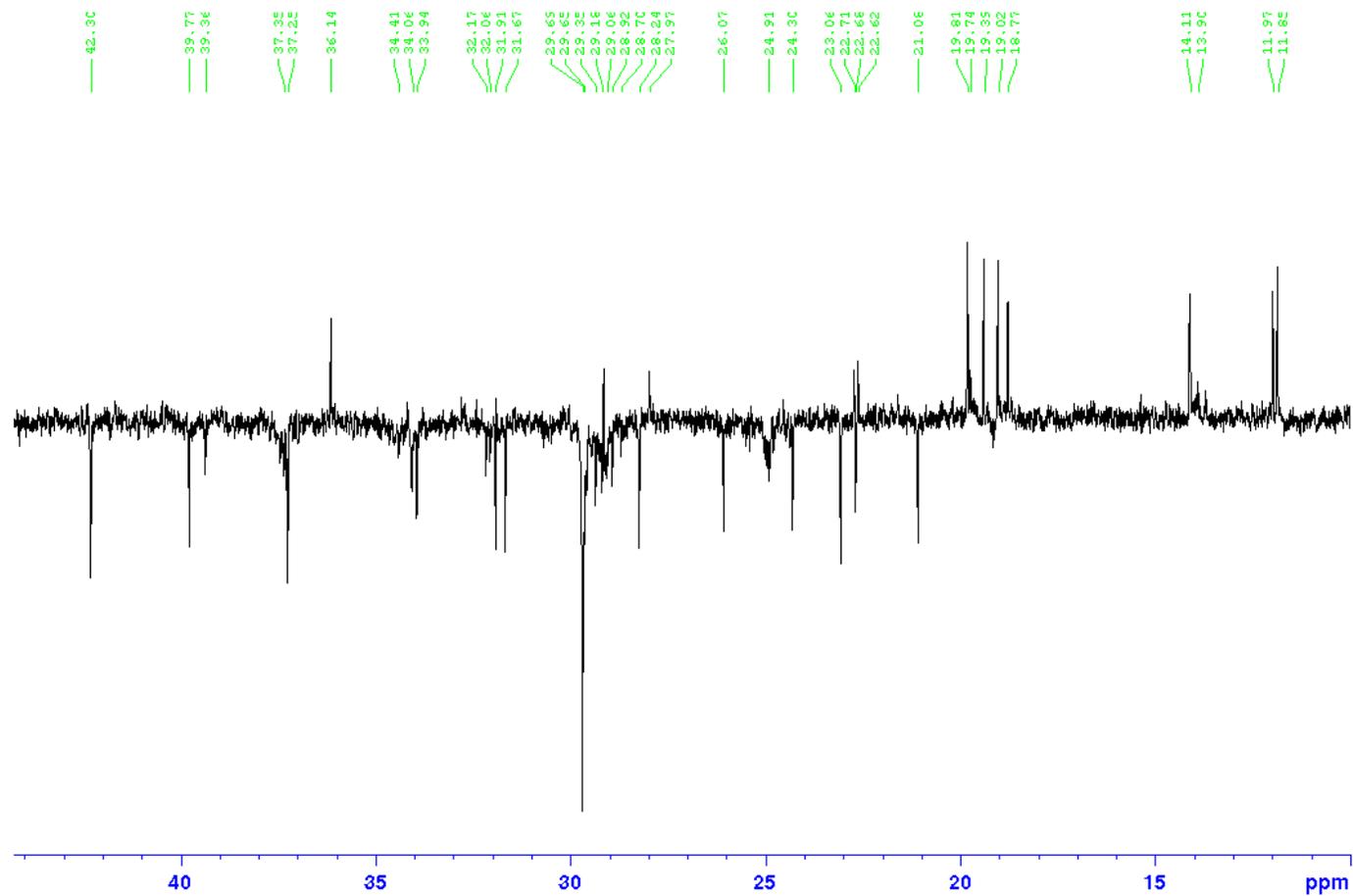
UCV / M. Rodriguez / RHT3 / CDCl3 / DEPT-135

Anexo 65 Espectro DEPT 135 de RMN ^{13}C del compuesto C (CDCl_3 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT3 / CDCl3 / DEPT-135



Anexo 66 Ampliación del Espectro DEPT 135 de RMN ^{13}C del compuesto C entre 125ppm y 50ppm (CDCl₃, 75MHz).

UCV / M. Rodriguez / RHT3 / CDCl₃ / DEPT-135

Anexo 67 Ampliación del Espectro DEPT 135 de RMN ¹³C del compuesto C entre 45ppm y 10ppm (CDCl₃, 75MHz).