

ESTUDIO QUÍMICO DE LA LIANA AYAHUASCA (*Banisteriopsis caapi*)

Víctor Reyna Pinedo^{1,2}, Virginia Torpoco Carmen¹, Tania Sánchez Ramírez¹

¹ Facultad de Ciencias - Química.

² Instituto Nacional de Medicina Tradicional, Ministerio de Salud, Lima

E-mail: vreyne@uni.edu.pe

RESUMEN

De la liana Ayahuasca (*Banisteriopsis caapi*) se aisló la harmina, que fue identificada mediante su punto de fusión y el análisis porcentual de elementos. Así mismo, se registraron sus espectros de masas, de RMN¹H y RMN¹³C, IR y UV. Además, se realizó el análisis cuantitativo de los metabolitos secundarios y la cuantificación del total de alcaloides presentes en la planta [1].

ABSTRACT

From the stem of the liana Ayahuasca (*Banisteriopsis caapi*) harmina was obtained, which was identified by its fusion point, the percent analysis of its elements, and the mass spectra RMN¹H, RMN¹³C, IR and UV. Furthermore, the qualitative analysis of the secondary metabolites was done, as well as the analysis to determine the amount of alkaloids present in the plant.

INTRODUCCIÓN

En toda la amazonía peruana los curanderos utilizan en sus sesiones nocturnas, permanentemente y desde hace siglos, la bebida denominada Ayahuasca, la cual se prepara a partir de dos plantas básicas: tallos de la liana ayahuasca (*Banisteriopsis caapi*) mezclada con hojas del arbusto chacruna (*Psychotria viridis*). En estas sesiones tanto el curandero como los pacientes ingieren la bebida [2].

Esta liana recibe el nombre de Ayahuasca en Perú, Ecuador y Colombia; Caapi en Brasil y Colombia; Yagé en Colombia y Natema en Ecuador.

El nombre científico de la liana ayahuasca es *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Grisebach) Morton, de la familia Malpighiaceae, siendo sinonimias la *B. inebrians* Morton y la *B. quitensis* (Niedenzu).

Los estudios más completos sobre los alcaloides presentes en la "ayahuasca" (*B. caapi*), la chacruna

(*P. viridis*) y la bebida Ayahuasca, han sido publicados por Rivier & Lindgren [3] y por McKenna et al. [4].

Los tallos de ayahuasca (*Banisteriopsis caapi*) contienen alcaloides del tipo β-carbolino principalmente harmina, tethahidroharmina (THH) y harmalina (dihidroharmina DHH) [3,4], Figura 1.

También se han reportado trazas de harmol y 6-metoxitriptamina [3]. Hashimoto & Kawanishi [5,6] y Hashimoto et al. [7] han reportado la presencia de trazas de otros 10 alcaloides, sin embargo, dada su pequeña concentración en la planta y sólo en algunas muestras, podrían tratarse de "artefactos", es decir productos que se forman durante los procesos de extracción química.

En los procedimientos generales de aislamiento de alcaloides [8], así como de la harmina presente en la

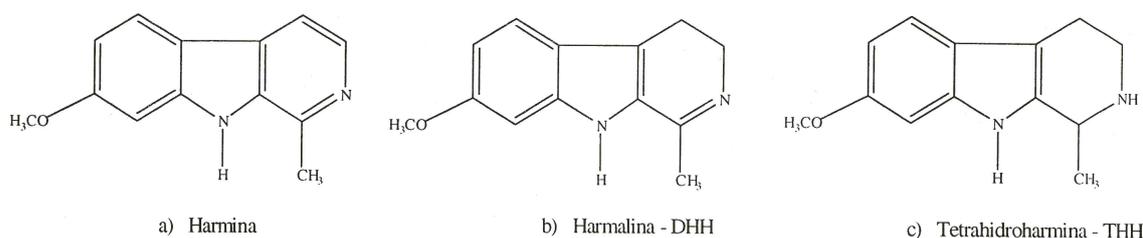


Fig. 1. Principales alcaloides presentes en la ayahuasca

liana ayahuasca [9,3] se toma ventaja de las propiedades básicas de los alcaloides y de las propiedades de solubilidad diferenciada que presentan estos compuestos y sus sales para conseguir su separación de los otros tipos de compuestos orgánicos presentes en las plantas y obtener el Extracto Bruto de Alcaloides – EBA. En nuestro trabajo hemos adoptado un procedimiento similar.

Hochstein & Paradies [9] purifican la harmina del EBA mediante recristalización y la identifican por su punto de fusión, su espectro IR, cromatografía en papel, y la comparación de estos resultados con aquellos de una muestra pura preparada por síntesis.

En cambio, Rivier & Lindgren [3] purifican los EBA mediante Cromatografía de Gases-CG, e identifican cada alcaloide por su tiempo de retención, su espectro de masas, y su comparación con alcaloides de referencia.

En la bibliografía no se reportan ningún análisis cualitativo precedente para la liana ayahuasca. Rivier & Lindgren [3] y McKenna et al. [4] realizaron el análisis cuantitativo de alcaloides presentes en la liana, sometiendo el extracto EBA a separación cromatográfica (Cromatografía de Gases y HPLC, respectivamente) y analizando cuantitativamente cada alcaloide que se separa de la mezcla, encontrando que el porcentaje total de alcaloides presentes en la corteza varía apreciablemente entre 0,11% y 1,36%.

Igualmente el porcentaje relativo de harmina, THH y DHH varía de una muestra a otra, siendo la harmina el constituyente principal (34 a 91%).

PARTE EXPERIMENTAL

El punto de fusión se determinó en un equipo Electrothermal JA9200 – Digital Melting Point APP (FIQM – UNI, LIMA – Perú). El análisis porcentual se efectuó en un Analizador Elemental EA 1108; el espectro de Masas se registró en un espectrómetro de Masas MS 5870B (70 eV); el espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno se obtuvo en un espectrómetro Bruker AM (100 MHz) y el espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono se obtuvo en un espectrómetro Bruker AH – 400 (400 MHz) (Instituto Universitario de Bio-Organica – Lab N°4, Universidad de la Laguna Tenerife – España). El espectro Infrarrojo se obtuvo en un espectrofotómetro infrarrojo Shimadzu FTIR 800 y el espectro Ultravioleta se obtuvo en un espectrofotómetro UV/VIS Perkin Elmer – LAMBDA 10. (FC - UNI, Lima – Perú)

Material Vegetal

Los tallos de la liana Ayahuasca (*Banisteriopsis caapi*) se colectaron en la Comunidad de Infierno, Provincia de Tambopata, Departamento de Madre de Dios (Perú), el 06 de octubre de 1984.

Los tallos de Ayahuasca se secaron, inmediatamente después de su colección y transporte a nuestro laboratorio, en una estufa “Labor” (Hungria) a 40 – 60 °C. La molienda del material vegetal se realizó en dos etapas, primero a grano grueso, utilizando un molino de cuchillas “Finommechanika” (Hungria) y posteriormente a grano fino con la ayuda de un molino de pulverización.

Análisis cualitativo (Marcha Fitoquímica)

Se realizaron dos análisis mediante el procedimiento de Rondina & Coussio [10], obteniéndose iguales resultados, y que la liana contiene alcaloides (+++), aminogrupos primarios y/o secundarios (+), grupos fenólicos (+), taninos (+), triterpenos y esteroides (+) y leucoantocianidinas (+). Además, se verificó que no contiene flavonoides, saponinas, quinonas y catequinas.

Estos resultados se confirmaron mediante la realización de ensayos específicos para cada grupo funcional [11].

Determinación cuantitativa de alcaloides

La determinación cuantitativa del total de alcaloides presentes en los tallos de la liana ayahuasca se realizó siguiendo el procedimiento de titulación ácido-base [12] obteniéndose 0,95%.

Aislamiento de la harmina

a. Extracción y separación

El material vegetal seco y pulverizado (150g) se “desengrasó” con *n*-hexano (3x600mL) y luego de dejar secar al ambiente se introdujo en un cartucho de tocuyo, que se dispuso en el cuerpo central de un extractor Soxhlet. Luego, la muestra se humedeció con una solución acuosa de amoníaco 15N (300 mL) y se dejó en reposo durante 1 hora. Sobre la muestra alcalinizada, dentro del cuerpo central del extractor, se adicionó 500mL de una mezcla de metanol-cloroformo (1;1) y se dejó macerar durante 10 días. La solución adquiere un color pardo que se separa por decantación.

En el balón del equipo Soxhlet se dispuso 1L de acetato de etilo y en el cuerpo central 0,5 L, y se colocó a reflujo 8 horas/día, durante 30 días, hasta obtener test de Mayer negativo.

Los extractos orgánicos se concentraron en dos etapas. Primero en rotavapor (40°C, 200PSI), y luego en una cápsula de porcelana ($\theta = 9\text{cm}$) sobre un baño maría (90°C), hasta sequedad, obteniéndose el Extracto Bruto Orgánico-EBO, que no se pesó.

El tratamiento de estos extractos con ácido sulfúrico

diluido 0,5N (4x100 mL, para formar las sales de alcaloides), el “lavado” con solvente orgánico acetato de etilo (3x400mL) y la subsiguiente regeneración de los alcaloides mediante la alcalinización de los extractos acuosos con solución de amoníaco 7,5N (34mL, pH 9), permite la separación de los alcaloides mediante su extracción con acetato de etilo (5x400mL).

La eliminación del solvente orgánico en el rotavapor (40°C, 300 mbar) proporciona el Extracto Bruto de Alcaloides, en forma de un sólido pulverulento de color marrón claro, que no se pesó. El análisis por CCF, frente a harmina pura (Sigma-USA) nos indica que el extracto contiene harmina.

b. Purificación

La purificación del extracto bruto de alcaloides se realizó en dos etapas. Primero, mediante recristalización en metanol (2 veces), obteniéndose 260 mg de harmina parcialmente purificada. Segundo, mediante cromatografía en columna de 200 mg de harmina semipurificada, adsorbente sílica gel 60H TLC – Merck, $\theta = 20\text{ mm}$ y altura de la columna = 12 cm, altura de sílica gel = 3,2 cm. La muestra se disolvió en cloroformo y la fracción N°1 se eluyó con este solvente. Luego se utilizó metanol al 2% en cloruro de metileno, colectándose 11 fracciones de 50 mL c/u. Las fracciones N°2 a 7 proporcionan un sólido blanco (180 mg), cuyo análisis por CCF y RMN¹H nos indica que se trata de harmina pura.

Identificación clásica de la harmina

La identificación del alcaloides se realizó mediante la obtención de su punto de fusión: 261,2°C (con descomposición) (referencia: 261°C, con descomposición, [13]) y el análisis porcentual de elementos C 73,31%; H 5,71%; N 13,4% y O 7,58%, que corresponden a la fórmula molecular de la harmina $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$. Asimismo, la CCF proporcionó una sola mancha de $R_f = 0,48$, que se superpone a la harmina pura de referencia (Sigma-USA): Placa de Kieselgel 60F₂₅₄ (sobre aluminio), eluente cloroformo-metanol (2,5:1), revelador UV y H_2SO_4 (ac) 36N con calentamiento.

Identificación espectroscópica de la harmina

Espectro de masas: Ver Espectro N°1
m/z 212 (ion molecular M^+ , 100%), 197 (24,51%),

183 (5,13%), 169 (50,25%), 106 (6,52%). Este espectro es similar al espectro presentado por Holmstedt & Lindgren [14] para la harmina.

Espectro de RMN¹H (100 MHz en DMSO-d₆) : Ver Espectro N°2.

δ (ppm) 2,73 (s, CH₃), 3,86 (s, OCH₃), 6,82 – 6,86 (2d, 2H aromáticos), 7,82 (d, 1H aromático), 8,04 (d, 1H aromático y N-H), 8,15 (d, 1H aromático). El espectro corresponde a lo esperado para la estructura de la harmina.

Espectro de RMN¹³C Dept 90 (400 MHz en DMSO-d₆) : Ver Espectro N°3 (A).

δ (ppm) Señales para arriba (5): Carbonos terciarios (CH): a 95,0 (C-12); 109,7 (C-10); 112,5 (C-6); 123,1 (C-9) y 137,5 (C-5). Este espectro corresponde a lo esperado para la estructura de la harmina.

Espectro de RMN¹³C Dept 135 (400MHz, en DMSO-d₆) :Ver Espectro N°3 (B).

δ (ppm). Señales para arriba (7): Carbonos primarios CH₃: a 20,4 (C-15) y 55,8 (C-14); carbonos terciarios (CH) 95,0 (C-12), 109,7 (C-10); 112,5 (C-6); 123,1 (C-9); 137,5 (C-5). Señales hacia abajo (0): carbonos secundarios (CH₂) no hay ninguno. Este espectro corresponde a lo esperado para la estructura de la harmina.

Espectro de IR (En pastilla de KBr_(s)). Ver Espectro N°4.

Presenta una banda ancha a 3155 cm⁻¹ asociada a la vibración de tensión N – H. No presenta otras bandas características que destaquen en el espectro.

Espectro UV (En etanol absoluto, 0,004 mg/mL). Ver Espectro N°5.

$\lambda_{\text{máx}}$ = 240, 300, 335 nm; valores análogos a aquellos publicados en el The Merck Index [13] para la harmina.

CONCLUSIONES

1. A partir de los tallos de la “ayahuasca” (*B. caapi*) se ha aislado la harmina, la cual se ha identificado mediante su punto de fusión, el análisis porcentual de elementos, su

comportamiento cromatográfico por CCF, y sus espectros de masas, RMN¹H, RMN¹³C, IR, y UV, y la comparación de éstos con lo publicado en la bibliografía.

2. Se realizó el análisis cualitativo de los metabolitos secundarios (Marcha Fitoquímica) presentes en los tallos de la “ayahuasca” según el procedimiento de Rondina y Coussio [10] y Villacrés [11], habiéndose verificado la presencia de: alcaloides (+++), aminogrupos primarios y/o secundarios (+), grupos fenólicos (+), taninos (+), triterpenos y esteroides (+), y leucoantocianidinas (+).
3. Se realizó la determinación cuantitativa del total de alcaloides de los tallos de la “ayahuasca”, según el procedimiento de Pelt et al. [12], habiéndose obtenido 0,95%.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al etnobotánico José Schunke Vigo (Instituto Nacional de Medicina Tradicional) por la identificación botánica del material vegetal; al Dr. Michel Benechie y a la Dra. François Khuong-Huu (Institut de Chimie des Substances Naturelles del Centre Nationale de la Recherche Scientifique, Gif-Sur-Yvette, Francia) por el apoyo y facilidades brindadas al Dr. Víctor Reyna P., durante su breve permanencia en dicho instituto (Set'2000), que le permitieron realizar el aislamiento de la harmina mediante purificación cromatográfica y el registro del espectro de RMN¹H, a la Dra. Ana Estévez Braun (Instituto Universitario de Bio-Orgánica IUBO, Universidad de La Laguna Tenerife-España) por la obtención de los espectros de masas, RMN¹H y RMN¹³C y el análisis porcentual de elementos, realizados durante la estadía que realizó la M. Sc. Virginia Torpoco en dicho Instituto (Ene-Mar'2001); y a nuestros colegas de la Universidad Nacional de Ingeniería por el registro del punto de fusión y los espectros de IR y UV; y al Instituto de Investigación de la FC-UNI por el apoyo económico que permitió realizar esta investigación.

Análisis cualitativo (Marcha Fitoquímica)

Se realizaron dos análisis mediante el procedimiento de Rondina & Coussio [10], obteniéndose iguales resultados, y que la liana contiene alcaloides (+++), aminogrupos primarios y/o secundarios (+), grupos fenólicos (+), taninos (+), triterpenos y esteroides (+) y leucoantocianidinas (+). Además, se verificó que no contiene flavonoides, saponinas, quinonas y catequinas.

Estos resultados se confirmaron mediante la realización de ensayos específicos para cada grupo funcional [11].

Determinación cuantitativa de alcaloides

La determinación cuantitativa del total de alcaloides presentes en los tallos de la liana ayahuasca se realizó siguiendo el procedimiento de titulación ácido-base [12] obteniéndose 0,95%.

Aislamiento de la harmina

a. Extracción y separación

El material vegetal seco y pulverizado (150g) se “desengrasó” con *n* – hexano (3x600mL) y luego de dejar secar al ambiente se introdujo en un cartucho de tocuyo, que se dispuso en el cuerpo central de un extractor Soxhlet. Luego, la muestra se humedeció con una solución acuosa de amoníaco 15N (300 mL) y se dejó en reposo durante 1 hora. Sobre la muestra alcalinizada, dentro del cuerpo central del extractor, se adicionó 500mL de una mezcla de metanol-cloroformo (1;1) y se dejó macerar durante 10 días. La solución adquiere un color pardo que se separa por decantación.

En el balón del equipo Soxhlet se dispuso 1L de acetato de etilo y en el cuerpo central 0,5 L, y se colocó a reflujo 8 horas/día, durante 30 días, hasta obtener test de Mayer negativo.

Los extractos orgánicos se concentraron en dos etapas. Primero en rotavapor (40°C, 200PSI), y luego en una cápsula de porcelana ($\theta = 9\text{cm}$) sobre un baño maría (90°C), hasta sequedad, obteniéndose el Extracto Bruto Orgánico-EBO, que no se pesó.

El tratamiento de estos extractos con ácido sulfúrico

diluido 0,5N (4x100 mL, para formar las sales de alcaloides), el “lavado” con solvente orgánico acetato de etilo (3x400mL) y la subsiguiente regeneración de los alcaloides mediante la alcalinización de los extractos acuosos con solución de amoníaco 7,5N (34mL, pH 9), permite la separación de los alcaloides mediante su extracción con acetato de etilo (5x400mL).

La eliminación del solvente orgánico en el rotavapor (40°C, 300 mbar) proporciona el Extracto Bruto de Alcaloides, en forma de un sólido pulverulento de color marrón claro, que no se pesó. El análisis por CCF, frente a harmina pura (Sigma-USA) nos indica que el extracto contiene harmina.

b. Purificación

La purificación del extracto bruto de alcaloides se realizó en dos etapas. Primero, mediante recristalización en metanol (2 veces), obteniéndose 260 mg de harmina parcialmente purificada. Segundo, mediante cromatografía en columna de 200 mg de harmina semipurificada, adsorbente sílica gel 60H TLC – Merck, $\theta = 20\text{ mm}$ y altura de la columna = 12 cm, altura de sílica gel = 3,2 cm. La muestra se disolvió en cloroformo y la fracción N°1 se eluyó con este solvente. Luego se utilizó metanol al 2% en cloruro de metileno, colectándose 11 fracciones de 50 mL c/u. Las fracciones N°2 a 7 proporcionan un sólido blanco (180 mg), cuyo análisis por CCF y RMN¹H nos indica que se trata de harmina pura.

Identificación clásica de la harmina

La identificación del alcaloides se realizó mediante la obtención de su punto de fusión: 261,2°C (con descomposición) (referencia: 261°C, con descomposición, [13]) y el análisis porcentual de elementos C 73,31%; H 5,71%; N 13,4% y O 7,58%, que corresponden a la fórmula molecular de la harmina C₁₃H₁₂N₂O. Asimismo, la CCF proporcionó una sola mancha de R_f = 0,48, que se superpone a la harmina pura de referencia (Sigma-USA): Placa de Kieselgel 60F₂₅₄ (sobre aluminio), eluente cloroformo-metanol (2,5:1), revelador UV y H₂SO₄ (ac)^{36N} con calentamiento.

Identificación espectroscópica de la harmina

Espectro de masas: Ver Espectro N°1
m/z 212 (ion molecular M⁺, 100%), 197 (24,51%),

183 (5,13%), 169 (50,25%), 106 (6,52%). Este espectro es similar al espectro presentado por Holmstedt & Lindgren [14] para la harmina.

Espectro de RMN¹H (100 MHz en DMSO-d₆) : Ver Espectro N°2.

δ (ppm) 2,73 (s, CH₃), 3,86 (s, OCH₃), 6,82 – 6,86 (2d, 2H aromáticos), 7,82 (d, 1H aromático), 8,04 (d, 1H aromático y N-H), 8,15 (d, 1H aromático). El espectro corresponde a lo esperado para la estructura de la harmina.

Espectro de RMN¹³C Dept 90 (400 MHz en DMSO-d₆) : Ver Espectro N°3 (A).

δ (ppm) Señales para arriba (5): Carbonos terciarios (CH): a 95,0 (C-12); 109,7 (C-10); 112,5 (C-6); 123,1 (C-9) y 137,5 (C-5). Este espectro corresponde a lo esperado para la estructura de la harmina.

Espectro de RMN¹³C Dept 135 (400MHz, en DMSO-d₆) : Ver Espectro N°3 (B).

δ (ppm). Señales para arriba (7): Carbonos primarios CH₃: a 20,4 (C-15) y 55,8 (C-14); carbonos terciarios (CH) 95,0 (C-12), 109,7 (C-10); 112,5 (C-6); 123,1 (C-9); 137,5 (C-5). Señales hacia abajo (0): carbonos secundarios (CH₂) no hay ninguno. Este espectro corresponde a lo esperado para la estructura de la harmina.

Espectro de IR (En pastilla de KBr_(s)). Ver Espectro N°4.

Presenta una banda ancha a 3155 cm⁻¹ asociada a la vibración de tensión N–H. No presenta otras bandas características que destaquen en el espectro.

Espectro UV (En etanol absoluto, 0,004 mg/mL). Ver Espectro N°5.

$\lambda_{\text{máx}}$ = 240, 300, 335 nm; valores análogos a aquellos publicados en el The Merck Index [13] para la harmina.

CONCLUSIONES

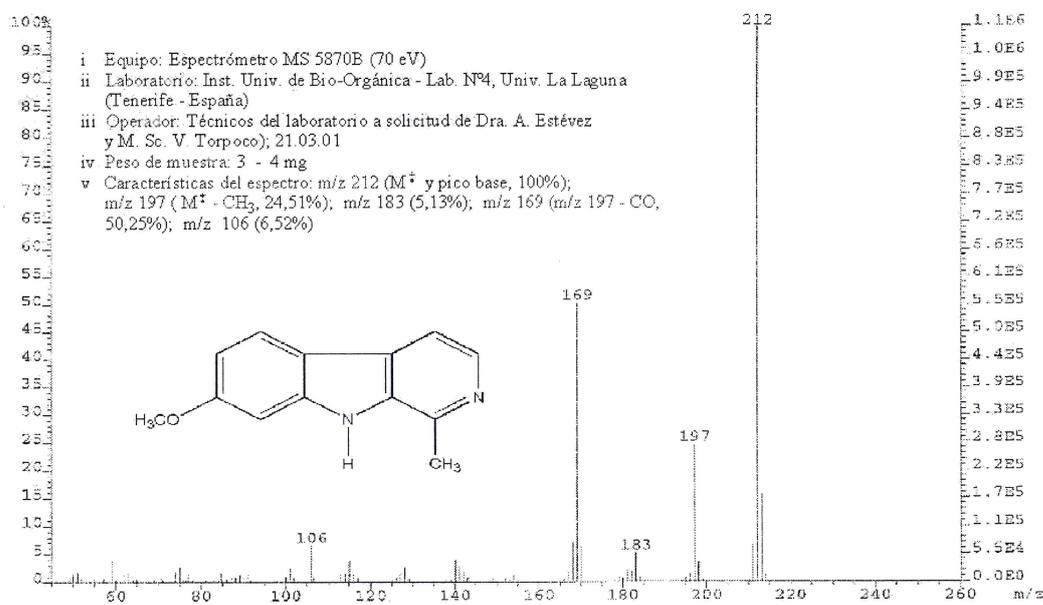
1. A partir de los tallos de la “ayahuasca” (*B. caapi*) se ha aislado la harmina, la cual se ha identificado mediante su punto de fusión, el análisis porcentual de elementos, su

comportamiento cromatográfico por CCF, y sus espectros de masas, RMN¹H, RMN¹³C, IR, y UV, y la comparación de éstos con lo publicado en la bibliografía.

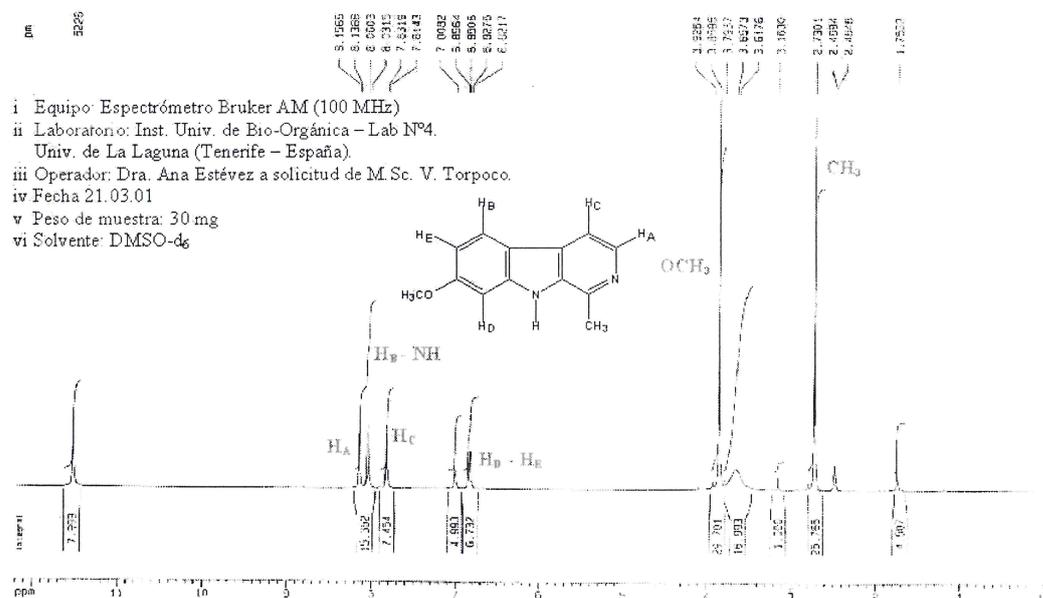
2. Se realizó el análisis cualitativo de los metabolitos secundarios (Marcha Fitoquímica) presentes en los tallos de la “ayahuasca” según el procedimiento de Rondina y Coussio [10] y Villacrés [11], habiéndose verificado la presencia de: alcaloides (+++), aminogrupos primarios y/o secundarios (+), grupos fenólicos (+), taninos (+), triterpenos y esteroides (+), y leucoantocianidinas (+).
3. Se realizó la determinación cuantitativa del total de alcaloides de los tallos de la “ayahuasca”, según el procedimiento de Pelt et al. [12], habiéndose obtenido 0,95%.

AGRADECIMIENTOS

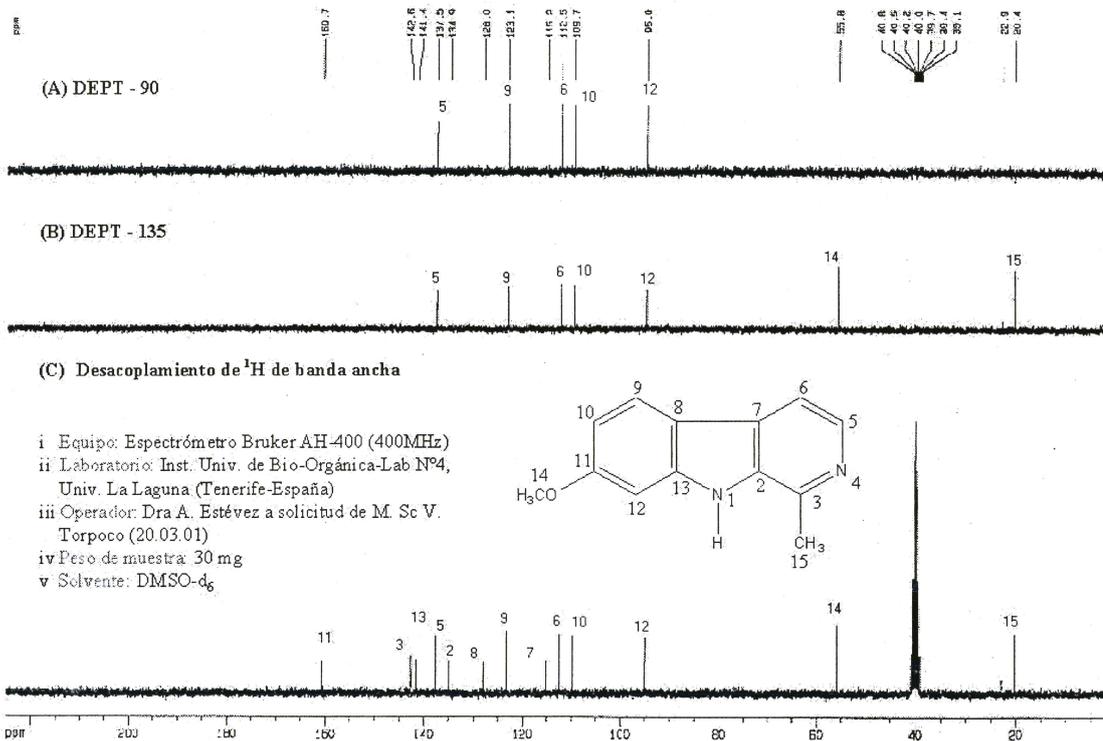
Agradecemos al etnobotánico José Schunke Vigo (Instituto Nacional de Medicina Tradicional) por la identificación botánica del material vegetal; al Dr. Michel Benechie y a la Dra. François Khuong-Huu (Institut de Chimie des Substances Naturelles del Centre Nationle de la Recherche Scientifique, Gif-Sur-Yvette, Francia) por el apoyo y facilidades brindadas al Dr. Victor Reyna P., durante su breve permanencia en dicho instituto (Set'2000), que le permitieron realizar el aislamiento de la harmina mediante purificación cromatográfica y el registro del espectro de RMN¹H, a la Dra. Ana Estévez Braun (Instituto Universitario de Bio-Orgánica IUBO, Universidad de La Laguna Tenerife-España) por la obtención de los espectros de masas, RMN¹H y RMN¹³C y el análisis porcentual de elementos, realizados durante la estadía que realizó la M. Sc. Virginia Torpoco en dicho Instituto (Ene-Mar'2001); y a nuestros colegas de la Universidad Nacional de Ingeniería por el registro del punto de fusión y los espectros de IR y UV; y al Instituto de Investigación de la FC-UNI por el apoyo económico que permitió realizar esta investigación.



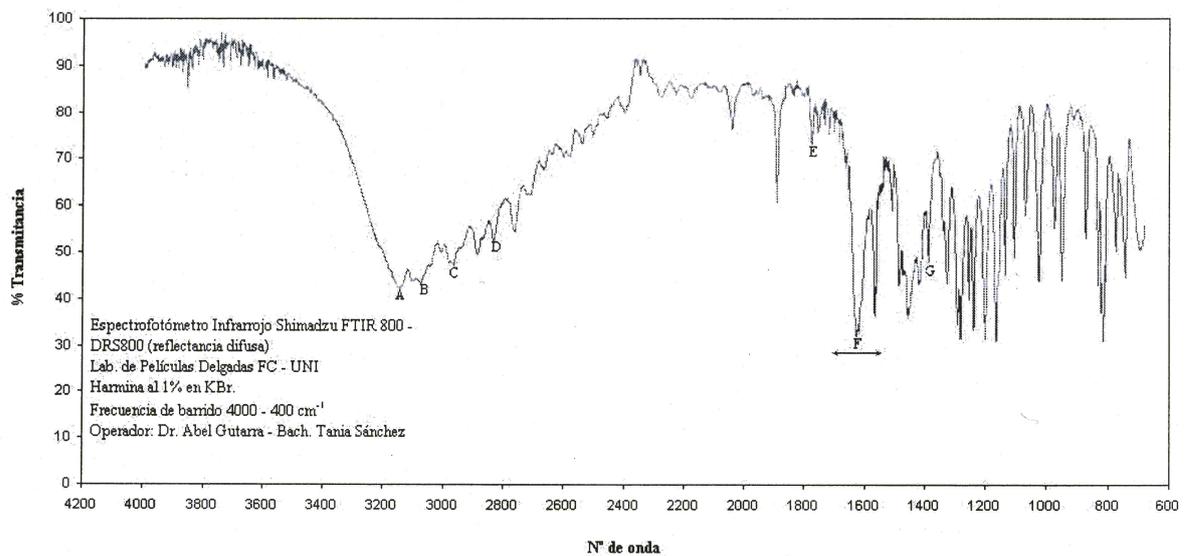
Espectro N° 1.- Espectro de masas de la Harmina obtenida a partir de la liana "ayahuasca" (B. caapi).



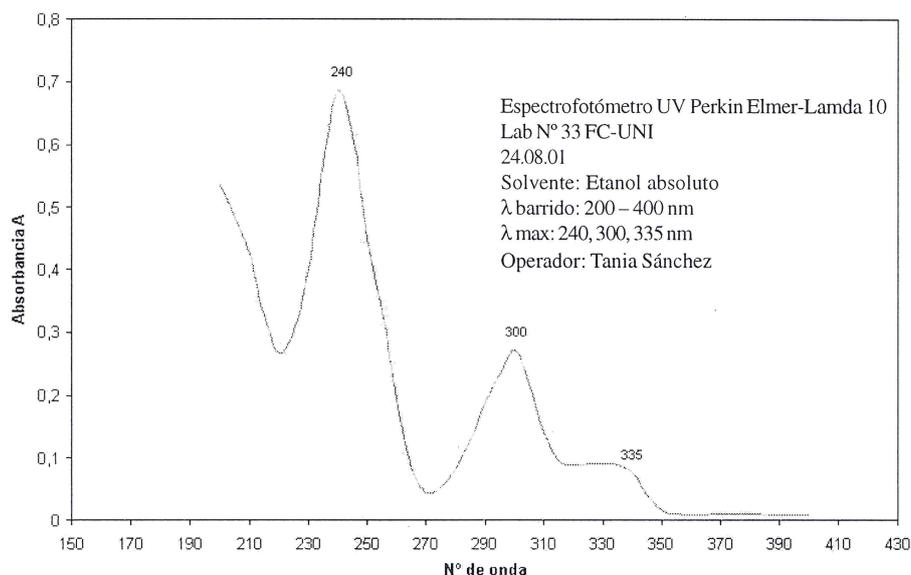
Espectro N°2.- Espectro RMN¹H (400MHz) de la Harmina obtenida a partir de la liana "ayahuasca" (B.caapi).



Espectro N3.- Espectro RMN^{13}C (400MHz) de la Harmina obtenida a partir de la liana "ayahuasca" (*B. caapi*).



Espectro N4.- Espectro Infrarrojo de la Harmina obtenida a partir de la liana "ayahuasca" (*B. caapi*).



Espectro N°5.- Espectro UV de la Harmina obtenida a partir de la liana "ayahuasca" (B. caapi).

BIBLIOGRAFÍA

1. **Sánchez R., Tania**, "Estudio Químico de la Liana Ayahuasca (*Banisteriopsis caapi* Spruce ex. Grisebach Morton)", Tesis de Licenciatura en Ciencias –Mención Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Lima, 2001, 124 Págs.
2. **Reyna P., Víctor y Virginia Torpoco C.** "Aislamiento del alcaloide N,N-Dimetiltriptamina de la chacruna (*Psychotria viridis*)", *Bol. Soc. Quím. (Perú)*, 60, 21-24 (1994).
3. **Rivier, L. and J. Lindgren**, "Ayahuasca, the South American Hallucinogenic Drink. an Ethnobotanical and Chemical Investigation", *Econ. Bot.*, 26, 101–129 (1972).
4. **McKenna, D., G. Towers and F. Abbott**, "Monoamine oxidase inhibitors in South American Hallucinogenic Plants: Triptamine and β -carboline constituents of Ayahuasca", *J. of Ethnopharm.*, 10, 195–223 (1984).
5. **Hashimoto, Y. and K. Kawanishi**, "New Organic bases from Amazonian *Banisteriopsis caapi*.", *Phytochemistry*, 14, 1633–1635 (1975).
6. **Hashimoto, Y. and K. Kawanishi**, "New alkaloids from *Banisteriopsis caapi*.", *Phytochemistry*, 15, 1559-1560 (1976).
7. **Hashimoto, Y., K. Kawanishi and Y. Uhara**, "Shihunine and dihydroshihunine from *Banisteriopsis caapi*", *J. Nat. Prod.*, 45, 637–639 (1982).
8. **Farnsworth N. and K. Euler**, "An Alkaloid Screening Procedure Utilizing Thin Layer Chromatography", *Lloydia*, 25, 186-195 (1962).
9. **Hochstein, F. A. and A. M. Paradies**, "Alkaloids: Isolation and Purification", *J. Am. Chem. Soc.* 79, 5735–5736, (1957).
10. **Rondina R., and J. Coussio**, "Estudio Fitoquímico de Plantas Medicinales", *Revista de Investigaciones Agropecuarias – INTA (Argentina), Serie 2, Vol VI, Nro33, 351-366 (1969).*
11. **Villacrés, V.**, *Bioactividad de Plantas Amazónicas. Abya – yala, Ecuador, 1995, págs. 154–171.*
12. **Pelt, J. M. et al.**, "Comparación de diverses méthodes officielles utilices pour le dosage des Alcaloides des Solanacées", *Bull. Soc. rm. Nancy*, 72, 12 – 21 (1967)
13. **The Merck Index**, 11th Ed., 1996, Pág. 728 (Harmina).
14. **Holmstedt, B. and J. Lindgren**, "Chemical Constituents and Pharmacology of South American Snuffs", in: Efron, D., B. Holmstedt and N. Kline (Eds), *Ethnopharmacological Search for Psychoactive Drugs*, Raven Press, New York, 1979, Págs 356. (Fig.10).

