



**UNAP**



**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**TESIS**

IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES POR MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS  
Y ESPECTROSCÓPICOS AISLADOS DE LA RAÍZ DE *Tabernaemontana*  
*markgrafiana* J.F. Macbr. UCHU SANANGO RECOLECTADO  
EN MAZÁN 2020

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO QUÍMICO**

**PRESENTADO POR:**

ELVIS CRISTIAN INSAPILLO FATAMA

**ASESORES:**

Ing. LASTENIA RUIZ MESIA, Dra.  
Ing. WILFREDO RUIZ MESIA, Dr.

**IQUITOS, PERÚ**

**2024**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN



UNAP

Facultad de Ingeniería Química  
Unidad de Investigación



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 025-CGT-FIQ-UNAP-2024

En Iquitos, en el auditorio de la Facultad de Ingeniería Química, a los 28 días del mes de Octubre de 2024, a horas 11:00 H., se dio inicio a la sustentación pública de la Tesis titulada: "IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES POR MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS Y ESPECTROSCÓPICOS AISLADOS DE LA RAÍZ DE *Tabernaemontana markgrafiana* J.F. Macbr. UCHU SANANGO RECOLECTADOS EN MAZÁN 2020", aprobado con Resolución Decanal N° 262-2024-FIQ-UNAP, presentado por el Bachiller: **Elvis Cristian Insapillo Fatama**, para optar el título profesional de **Ingeniero Químico**, que otorga la Universidad de acuerdo Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante R. D. N° 045-2022-FIQ-UNAP está integrado por:

|                                        |            |
|----------------------------------------|------------|
| Ing. DUMA LUZ RENGIFO PINEDO, Dra.     | Presidente |
| Ing. ROSA ISABEL SOUZA NAJAR, Dra.     | Miembro    |
| Ing. JORGE ANTONIO SUÁREZ RUMICHE, Dr. | Miembro    |

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: Satisfactoriamente

El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública y la tesis ha sido: Aprobada con la calificación Buena, estando el bachiller apto para obtener el Título Profesional de Ingeniero Químico. Siendo las 12:00 Horas se dio por terminado el acto de sustentación

  
Ing. DUMA LUZ RENGIFO PINEDO, Dra.  
Presidente de Jurado

  
Ing. ROSA ISABEL SOUZA NAJAR, Dra.  
Miembro

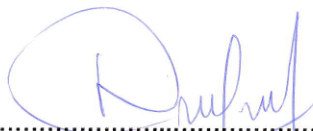
  
Ing. JORGE ANTONIO SUÁREZ RUMICHE, Dr.  
Miembro

  
Ing. LASTENIA RUIZ MESIA, Dr.  
Asesor

  
Ing. WILFREDO RUIZ MESIA, Dr.  
Asesor

UNIVERSIDAD

## JURADO Y ASESORES



Ing. DUMA LUZ RENGIFO PINEDO, Dra.  
Presidente de Jurado



Ing. ROSA ISABEL SOUZA NAJAR, Dra.  
Miembro



Ing. JORGE ANTONIO SUÁREZ RUMICHE, Dr.  
Miembro



Ing. LASTENIA RUIZ MESIA, Dra.  
Asesor



Ing. WILFREDO RUIZ MESIA, Dr.  
Asesor

## RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD

**ELVIS CRISTIAN INSAPILLO FATAMA**

**FIQ\_TESIS\_INSAPILLO FATAMA.pdf**

13-17ENE

13-17ENE

Universidad Nacional De La Amazonia Peruana

### Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::20208:422192016

42 Páginas

Fecha de entrega

20 ene 2025, 2:58 p.m. GMT-5

9,516 Palabras

Fecha de descarga

20 ene 2025, 3:09 p.m. GMT-5

47,797 Caracteres

Nombre de archivo



Página 2 of 49 - Descripción general de integridad

Identificador de la entrega trn:oid::20208:422192016

## 20% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

### Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

### Fuentes principales

17% Fuentes de Internet

4% Publicaciones

11% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

### Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.



Página 2 of 49 - Descripción general de integridad

Identificador de la entrega trn:oid::20208:422192016

## **DEDICATORIA**

A nuestro padre celestial, por darme la sabiduría e inteligencia para poder superar con mucha constancia las pruebas que nos pone en el camino, por permitirme seguir adelante a pesar de los obstáculos que se nos presentan en la vida.

A mi madre y padre que con sus esfuerzos vinieron apoyándome constantemente en mi carrera profesional ya que ellos fueron el pilar importante en mi vida.

A Hivelli Ericka Ricopa Cotrina por su amistad constante y el apoyo en la elaboración de la tesis.

***Elvis Cristian Insapillo Fatama***

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecer a Dios por darme salud y vida, por permitirme terminar este proyecto de tesis con mucho esmero y éxito.

A la Dra. Lastenia Ruíz Mesía, por permitirme realizar la tesis de pre grado en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitarios de la Amazonia (LIPNAA), área de Fitoquímica, del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Amazonia (CIRNA), de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP).

Esta Tesis ha sido financiada con presupuesto de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Resolución Rectoral N° 0189-2018-UNAP, (2018-2020).

A la Ing. Hivelli Ericka Ricopa Cotrina por su apoyo en la realización del proyecto de tesis, por la paciencia brindada y por sus enseñanzas.

Un profundo agradecimiento por el apoyo que me brindo en la elaboración de esta tesis; al Dr. Wilfredo Ruiz Mesías.

Al Instituto de Productos Naturales y Agrobiología (IPNA) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

A todo el equipo que conforman el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitarios de la Amazonía – Unidad especializada del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Amazonía y a cada uno de mis amigos y familiares que me dieron su apoyo.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

|                                                              | Página   |
|--------------------------------------------------------------|----------|
| Portada                                                      | i        |
| Acta de Sustentación                                         | ii       |
| Jurados                                                      | iii      |
| Resultado del Informe de Similitud                           | iv       |
| Dedicatoria                                                  | v        |
| Agradecimiento                                               | vi       |
| Índice de Contenido                                          | vii      |
| Índice de Contenido                                          | viii     |
| Índice de Figuras                                            | ix       |
| Índice de Tablas                                             | x        |
| Índice de Diagramas                                          | xi       |
| Resumen                                                      | xii      |
| Abstract                                                     | xiii     |
| <b>INTRODUCCIÓN</b>                                          | <b>1</b> |
| <b>CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO</b>                             | <b>3</b> |
| 1.1. <b>Antecedentes.</b>                                    | <b>3</b> |
| 1.2. <b>Bases Teóricas.</b>                                  | <b>5</b> |
| 1.2.1    Identificación Botánica.                            | 5        |
| 1.2.1.1    Taxonomía de la Especie Vegetal.                  | 5        |
| 1.2.1.2    Descripción Botánica.                             | 6        |
| 1.2.1.3    Sinonimia.                                        | 6        |
| 1.2.1.4    Distribución y Hábitat.                           | 6        |
| 1.2.1.5    Distribución en el Perú.                          | 7        |
| 1.2.1.6    Nombres Comunes.                                  | 7        |
| 1.2.1.7    Usos.                                             | 8        |
| 1.2.2    Alcaloides, Generalidades                           | 8        |
| 1.2.2.1    Definición de Alcaloides.                         | 8        |
| 1.2.2.2    Clasificación de Alcaloides.                      | 9        |
| 1.2.2.3    Características generales de los alcaloides.      | 10       |
| 1.2.2.4    Alcaloides Indólicos.                             | 11       |
| 1.2.2.5    Propiedades Físicas y Químicas de los Alcaloides. | 11       |
| 1.2.4    Técnicas Cromatográficas.                           | 12       |
| 1.2.5    Identificación estructural.                         | 14       |

|                                              |                                                     |    |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----|
| 1.2.5.1                                      | Resonancia Magnética Nuclear (RMN).                 | 14 |
| 1.2.5.2                                      | Espectrometría de Masas (EM).                       | 15 |
| 1.2.5.3                                      | Espectroscopía de Infrarrojo (IR).                  | 16 |
| 1.3                                          | <b>Definición de Términos Básicos.</b>              | 16 |
| <b>CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES</b>    |                                                     | 18 |
| 2.1.                                         | <b>Formulación de la Hipótesis.</b>                 | 18 |
| 2.2.                                         | <b>Variables y Definiciones Operacionales.</b>      | 18 |
| <b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA</b>             |                                                     | 20 |
| 3.1.                                         | <b>Tipo y Diseño.</b>                               | 20 |
| 3.2.                                         | <b>Diseño Muestral.</b>                             | 20 |
| 3.2.1.                                       | Población de estudio                                | 20 |
| 3.2.2.                                       | Muestra.                                            | 20 |
| 3.3.                                         | <b>Técnicas e Instrumentos</b>                      | 21 |
| 3.3.1.                                       | Técnicas Espectrométricos                           | 21 |
| 3.3.2.                                       | Técnica espectroscópico                             | 22 |
| 3.4.                                         | <b>Procedimiento de recolección de datos.</b>       | 23 |
| 3.4.1.                                       | Materiales, Equipos y Reactivos                     | 23 |
| 3.4.2.                                       | Procedimiento Experimental.                         | 24 |
| 3.4.2.1.                                     | Recolección e Identificación de la especie vegetal. | 24 |
| 3.4.2.2.                                     | Preparación de la muestra.                          | 25 |
| 3.4.2.3.                                     | Preparación de extractos.                           | 25 |
| 3.4.2.4.                                     | Extracción de alcaloides.                           | 25 |
| 3.4.2.5.                                     | Fraccionamiento cromatográfico.                     | 26 |
| 3.4.2.6.                                     | Determinación estructural de los alcaloides.        | 32 |
| 3.5.                                         | <b>Procesamiento y Análisis de los Datos.</b>       | 32 |
| 3.5.1.                                       | Análisis de datos.                                  | 32 |
| 3.6.                                         | <b>Aspectos Éticos.</b>                             | 32 |
| <b>CAPÍTULO IV: RESULTADOS</b>               |                                                     | 33 |
| <b>CAPÍTULO V: DISCUSIÓN</b>                 |                                                     | 36 |
| <b>CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES</b>             |                                                     | 39 |
| <b>CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES</b>         |                                                     | 40 |
| <b>CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN</b> |                                                     | 41 |
| <b>ANEXOS</b>                                |                                                     | 46 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                        |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Figura 1.</b> Tabernaemontana markgrafiana J.F. Macbr                               | 5         |
| <b>Figura 2.</b> Mapa de ubicación en el mundo                                         | 7         |
| <b>Figura 3.</b> Mapa de ubicación en el Perú                                          | 7         |
| <b>figura 4</b> Espectro de Resonancia Magnetica Nuclear de Proton de 19S<br>Heynenina | 47        |
| <b>Figura 5</b> Espectro de Masas 19 S Heyneanina                                      | 47        |
| <b>Figura 6</b> Espectro de Resonancia Magnetica Nuclear de 13 C 19 S<br>Heyneanina    | 48        |
| <b>Figura 7</b> Espectro de Resonancia Magnetica Nuclear de 1H de Voacristina          | 48        |
| <b>Figura 8</b> Espectro de resonancia magnética Nuclear de 13 C de<br>Voacristina     | <b>49</b> |
| <b>Figura 9</b> Espectro de Masa de Voacristina                                        | 49        |
| <b>Figura 10</b> Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de 1H de<br>Voacangine       | 50        |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla 1.</b> Clasificación de Alcaloides                                                     | 9  |
| <b>Tabla 2.</b> Operacionalización de variables                                                 | 19 |
| <b>Tabla 3.</b> Datos de RMN de $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ de 19 S Heyneanina y Voacristina | 33 |
| <b>Tabla 4.</b> RMN de $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ de Voacangina Hidroxiindolenina           | 34 |
| <b>Tabla 5.</b> Datos de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , HSQC, HMBC de Voacristina      | 36 |

## ÍNDICE DE DIAGRAMAS

|                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Diagrama 1.</b> Extracción de alcaloides de la raíz de la <i>Tabernaemontana markgrafiana</i> J.K. Macbr UCHU SANANGO.                         | 26 |
| <b>Diagrama 2.</b> Fraccionamiento, aislamiento y purificación de los alcaloides de la raíz de la <i>Tabernaemontana markgrafiana</i> J.F. Macbr. | 30 |
| <b>Diagrama 3.</b> Fraccionamiento, aislamiento y purificación de los alcaloides de la raíz de la <i>Tabernaemontana markgrafiana</i> J.F. Macbr. | 31 |

## RESUMEN

El propósito de este estudio de investigación consistió en aislar y caracterizar estructuralmente los alcaloides presentes en las raíces de *Tabernaemontana markgrafiana* J. K. Macbr (conocida como Uchu sanango), utilizando métodos espectroscópicos y espectrométricos. Para llevar a cabo el proceso, se secó la raíz de *Tabernaemontana markgrafiana* J. K. Macbr. (2,1 kg) a una temperatura de 20 °C durante 15 días. Posteriormente, se realizó una extracción etanólica, durante 30 días cambiando el solvente cada 48 horas. El etanol fue eliminado mediante presión reducida en un rotavapor hasta obtener un extracto seco con un peso de 138,20 g. A partir del extracto etanólico (138,20 g), se obtuvieron diferentes extractos: extracto alcaloidal ácido (3,34 g), un residuo alcaloidal ácido (58,26 g), extracto alcaloidal básico (593,3 mg) y un residuo alcaloidal básico (6,23 g).

Se utilizaron técnicas cromatográficas para aislar y purificar los alcaloides, a partir de los extractos alcaloidales. Se determinó la estructura química de tres alcaloides: *Voacristina*, *Voacangina hidroxindolenina* y *19 S Heyneanina*, mediante la interpretación de datos espectrométricos (EM) y espectroscópicos (RMN 1H y RMN 13C), y por comparación con la información publicada en la literatura científica.

**Palabras Clave:** *Tabernaemontana markgrafiana* J.K. Macbr, Extractos alcaloidales, Cromatografía, Espectroscopia.

## ABSTRACT

The purpose of this research study was to isolate and describe the structural characteristics of the alkaloids present in the roots of the plant *Tabernaemontana markgrafiana* J.K. Macbr (known as Uchu sanango) using spectroscopic and spectrometric methods. To carry out the process, the root of *Tabernaemontana markgrafiana* J.K. Macbr. (2,100 kg) was dried at a temperature of 20 °C for 15 days. Subsequently, an ethanolic extraction was performed by maceration with ethanol for 30 days, changing the solvent every 48 hours. The ethanol was removed by reduced pressure in a rotary evaporator until a dry extract with a weight of 138,20 g was obtained. From the ethanolic extract (138,20 g), different fractions were obtained: an acidic alkaloidal extract (3,34 g), an acidic alkaloidal residue (58,26 g), a basic alkaloidal extract (593,3 mg), and a basic alkaloidal residue (6,23 g). In conclusion, chromatographic techniques were performed to separate the alkaloidal extracts, and the chemical structure of three alkaloids was determined: Voacristine, Voacangine hydroxyindolenine, and 19 S Heyneanine. The chemical structure of these compounds was determined by interpreting spectrometric (MS) and spectroscopic (<sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR) data and compared with information published in the scientific literature on chemistry.

**Keywords:** *Tabernaemontana markgrafiana* J.K. Macbr, Alkaloidal extracts, Chromatography, Spectroscopy.

## INTRODUCCIÓN

El objetivo principal de esta investigación fue aislar e identificar los alcaloides de los extractos alcaloidales de la raíz de *Tabernaemontana markgrafiana* J. K. Macbr.

El género *Tabernaemontana*, está compuesto de más de 100 especies vegetales su composición química radica principalmente en el contenido de alcaloides, y presentan una variada actividad biológica.

En muchas regiones tropicales donde crecen las especies de *Tabernaemontana*, estas plantas se utilizan en la medicina tradicional para tratar una variedad de enfermedades. Por ejemplo, se han usado para tratar afecciones gastrointestinales, enfermedades de la piel, fiebre y dolor, entre otros usos.

A nivel mundial los productos naturales (plantas medicinales) juegan un rol muy importante y significativo en el campo medicinal y económico, el hombre ha hecho uso de los metabolitos secundarios con diversos propósitos como remedios para combatir enfermedades. Actualmente se siguen utilizando como medicamentos, colorantes, insecticidas, drogas medicinales y adictivas, y cosméticos entre otros.

(Sierra, y otros, 2018).

Históricamente, los productos naturales han jugado un papel esencial en el descubrimiento de nuevos fármacos. Esto queda reflejado en la cantidad de fármacos de origen natural y derivados sintéticos, actualmente en uso clínico. Muchas de las drogas utilizadas clínicamente derivadas de productos naturales se originaron de especies microbianas, particularmente en el área antiinfecciosa, pero las drogas derivadas de plantas también han hecho contribuciones significativas, y es cierto que la humanidad sería inconmensurablemente la más pobre sin tales drogas derivadas de plantas naturales como morfina, vinblastina, vincristina, quinina, artemisinina, etopósido, tenipósido, paclitaxel y los derivados de camptotecina, topotecán e irinotecán no existieran. Los medicamentos de base marina también están contribuyendo cada vez más, yondelis (trabectedina) es un ejemplo de una droga contra el cáncer de origen marino.

Como parte de este proyecto de investigación, el objetivo fue realizar el aislamiento y la caracterización estructural de los alcaloides presentes en las raíces de *Tabernaemontana markgrafiana* J.F Macbr, específicamente la variedad Uchu

Sanango recolectada en Mazan. A nivel global, los productos naturales desempeñan un papel significativo en los campos de la medicina y la economía, y a lo largo del tiempo, los seres humanos han utilizado ampliamente estos productos para diversos propósitos, como el tratamiento de enfermedades. Hoy en día, siguen siendo utilizados en la medicina, como colorantes, insecticidas, drogas medicinales y adictivas, así como en cosméticos, entre otros usos <sup>(1)</sup>

En el Perú, hay una escasez notable de investigación fitoquímica, y la mayoría de los estudios publicados sobre el aislamiento de compuestos de plantas se realizaron en el extranjero. Estos estudios implicaron la extracción de material biológico del país, que luego fue analizado en laboratorios internacionales y se obtuvo una patente <sup>(2)</sup>. En nuestro caso, las muestras de alcaloides se separaron y purificaron utilizando técnicas de cromatografía en columna (CC), cromatografía preparativa (CP) y cromatografía en capa fina (TLC). La determinación de la estructura química se llevó a cabo en el Instituto de Agrobiología de Canarias, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Tenerife (España), utilizando espectros y datos espectroscópicos como el <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C NMR, HSQC y HMBC. Los alcaloides se identificaron al interpretar estos datos y compararlos con la literatura química publicada. Los alcaloides identificados fueron Voacristina, Voacangina hidroxindolenina y 19 S Heyneanina.

El propósito de este estudio fue comprobar que las raíces de *Tabernaemontana markgrafiana* J.F. Macbr., recolectadas en Mazán, una planta ampliamente utilizada en la Amazonía peruana para tratar diversas enfermedades y dolencias, contenían alcaloides que fueron identificados a través de técnicas de espectroscopía y espectrometría. Este descubrimiento permitió aprovechar esta planta como fuente de nuevos compuestos, lo cual fue de gran utilidad en los campos de la farmacia y la medicina al proporcionar una nueva materia prima. El enfoque principal de este estudio fue buscar metabolitos secundarios en *Tabernaemontana markgrafiana* J.F. Macbr., recolectada en Mazán, con especial atención en los alcaloides.

## CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

### 1.1. ANTECEDENTES.

En la actualidad, existe una escasa investigación dedicada a la identificación y aislamiento de alcaloides en el género *Tabernaemontana*. Para respaldar la problemática de investigación planteada, se realizaron búsquedas bibliográficas que proporcionaron algunos antecedentes relevantes.

En el 2019, se llevó a cabo un estudio en el cual se aislaron diversos compuestos de los frutos de *Tabernaemontana inconspicua* Stapf. Estos compuestos incluyeron los alcaloides indólicos 5,6-dioxo-11-hydroxy voacangine, ibogamine-16-carboxylicacid-17,20-didehydro-5,6-dioxo-10-methoxy-methyl éster, voacangine, perakine, y también se identificó un triterpeno pentacíclico conocido como ácido ursólico. <sup>(3)</sup>

En el 2018, se llevó a cabo un estudio químico realizado por Ashish Kumar y otros investigadores, en el cual se analizó la corteza de *Tabernaemontana coronaria*. Como resultado de este estudio, se logró aislar varios compuestos, incluyendo tres alcaloides del tipo carbazol: glicozolina, glicozolidina y metil carbazol 3-carboxilato, dos alcaloides del tipo furoquinolinas: skimmianine y dictamine, un alcaloide de acridona llamado arborinina, tres alcaloides indólicos monoméricos: coronaridina, 10-metoxi coronaridina y tabernaemontanina, y dos alcaloides indólicos diméricos: voacamina y tabernaelegantina B. <sup>(4)</sup>

En el 2018, un estudio químico realizado por Yan Deng y otros investigadores, se llevaron a cabo investigaciones sobre aislamiento e identificación de compuestos. En este estudio se descubrieron y caracterizaron tres nuevos alcaloides indol monoterpénicos: 3 $\alpha$ -hidroximetil-ibogamina, 3 $\alpha$ -acetatometoxil-ibogamina y 16 $\alpha$ -hidroxil-ibogamina. Además, se identificaron seis alcaloides previamente conocidos: coronaridina, voacangina, isovoacangina, Heyneanina, coronaridina hidroxindolenina y taberdivarina. <sup>(5)</sup>

En 2017, se llevó a cabo un estudio en Ecuador que tuvo un enfoque analítico cuantitativo y un diseño experimental. La población de estudio consistió en las especies vegetales *Mucuna cf. elliptica* y *Tabernaemontana sananho*, recolectadas en la ciudad de Macas, en la región nororiental de la provincia de Morona Santiago. Durante el estudio, se realizaron extracciones alcohólicas, hexánicas y acuosas de las hojas, frutos y planta completa de *Tabernaemontana sananho*. Los análisis fitoquímicos revelaron una abundante presencia de alcaloides, flavonoides y fenoles en el extracto acuoso, una presencia moderada de alcaloides, fenoles y flavonoides en el extracto etanólico, y una baja presencia de alcaloides y triterpenos en el extracto hexánico. En conclusión, determinaron que la composición química de los extractos vegetales de *Mucuna cf. elliptica* y *Tabernaemontana sananho* incluye metabolitos secundarios como alcaloides, fenoles y flavonoides, entre otros. Además, se observaron que el extracto etanólico del fruto de *Tabernaemontana sananho* presentó una mayor actividad anti-hemolítica debido a los compuestos químicos presentes en el extracto. <sup>(6)</sup>.

En 2015, lograron aislar e identificar de treinta y siete (37) alcaloides de las hojas de *Tabernaemontana officinalis*. Entre estos se encontraron veintinueve (29) alcaloides indólicos monoterpénicos previamente conocidos, así como seis (06) nuevos alcaloides denominados taberdivarinas A - F. Además, se identificaron dos (02) monómeros llamados taberdivarinas G y H, junto con dos (02) alcaloides bisindólicos, voafilina y vobasinilo. <sup>(7)</sup>

En 2015, Kuan-Hon Lim y sus colegas llevaron a cabo un estudio en el cual aislaron y determinaron la estructura química de seis alcaloides indólicos desconocidos. Estos nuevos compuestos incluyen la cononulina, que es un raro ejemplo de un alcaloide conjugado de iboga-pirrolidona, así como la ervalutina, la vincamajicina, la tacamonidina, la 6-oxoibogaína y el cloruro de N4-clorometilnorfluorocurarina. Además, se identificaron dos nuevos alcaloides de bisindol vobasinil-iboga, las ervatensinas (A y B), junto con otros alcaloides ya conocidos. <sup>(8)</sup>

## 1.2. BASES TEÓRICAS.

### 1.2.1 Identificación Botánica.

La especie estudiada en esta investigación es *Tabernaemontana markgrafiana* J.F. Macbr., que es conocida en la región amazónica como Uchu sanango. <sup>(9)</sup>

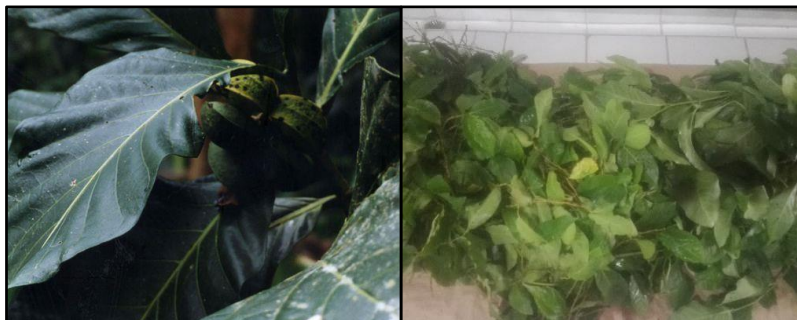


**Figura 1.** *Tabernaemontana markgrafiana* J.F. Macbr <sup>(10)</sup>

#### 1.2.1.1 Taxonomía de la Especie Vegetal.

Se tiene la siguiente Información según bibliografías. <sup>(11) (12)</sup>

**Nombre común** : Lagarto micunan, Uchu sanango

**Nombre científico** : *Tabernaemontana markgrafiana*

**Reino** : Plantae

**Orden** : Gentianales

**Familia** : Apocynaceae

**Género** : *Tabernaemontana*

**Phylum** : Angiosperma

**Clase** : Eudicots

**Epiteto específico** : *markgrafiana* J.F. Macbr.

**Determinador** : Leeuwenberg, J. M

#### 1.2.1.2 Descripción Botánica.

La especie *Tabernaemontana markgrafiana* J.F. Macbr., conocida como uchú sanango, es un arbusto que puede alcanzar hasta 4 metros de altura. Sus ramas son sin vellosidades y tienen una médula amplia. Las hojas son simples, lanceoladas, de 20 a 40 cm de largo y 8 a 15 cm de ancho, con un ápice puntiagudo y una base casi obtusa, opuesta y desigual, sin vellosidades. Presentan venas primarias y secundarias pinnadas, con 13 a 21 pares de venas secundarias y venación terciaria conspicua. Los pecíolos miden de 0,5 a 1,5 cm. Las inflorescencias son cimosas, frondosas y mayormente axilares, con numerosas flores medianas de corola amarillenta y tubo floral retorcido de unos 2,4 cm. Las flores tienen 5 estambres, un gineceo carpulado y un ovario súpero con numerosos óvulos. Los frutos son apocárpicos, formados por dos folículos ovalados y acuminados de 6 a 7 cm de largo, con muchas semillas rodeadas de un arilo comestible blanco. <sup>(13) (9)</sup>

#### 1.2.1.3 Sinonimia.

Esta especie vegetal es conocida como *Bonaifousia longituba* Markgr. <sup>(11) (9)</sup>

#### 1.2.1.4 Distribución y Hábitat.

La especie vegetal uchu sanango (*Tabernaemontana markgrafiana* J.F.) se encuentra en diferentes tipos de bosques, incluyendo bosques primarios, tropicales húmedos y muy húmedos, así como bosques estacionales de áreas inundadas y aluviales. Su distribución abarca varios países de América, como Ecuador (provincia de Esmeraldas, San Lorenzo y el cantón Eloy Alfaro, vegetación del río Chimbagal; provincias del Napo y Sucumbios, comunidad indígena Cofán en el Parque Yasuní), Colombia (Leticia), Perú (Iquitos, Pucallpa), Venezuela (San Felipe, Río Negro), Panamá (Coclé, Colón, Panamá y Kuna Yala), Brasil y Surinam <sup>(14)</sup>

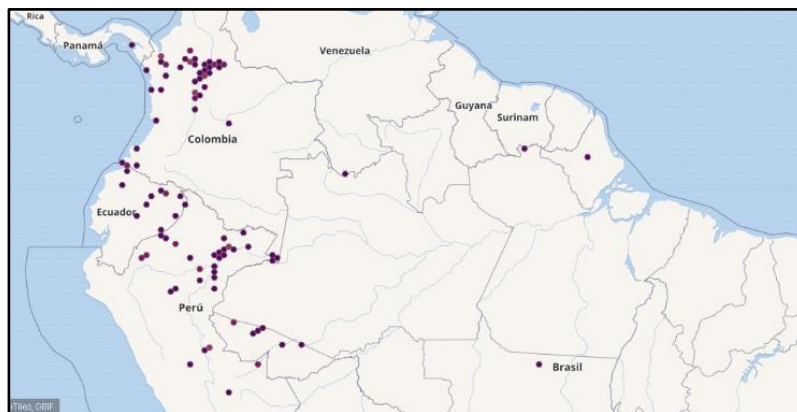


**Figura 2.** Mapa de ubicación en el mundo

#### 1.2.1.5 Distribución en el Perú.

El género *Tabernaemontana markgrafiana* J.F., conocido como uchu sanango, se encuentra presente en varias regiones del Perú, incluyendo los departamentos de Loreto, Ucayali, Cerro de Pasco y Cuzco. <sup>(15)</sup>

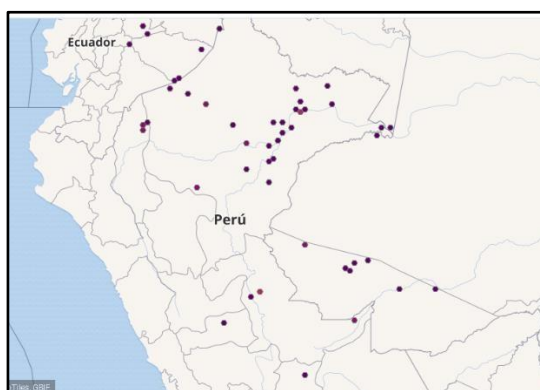


**Figura 3.** Mapa de ubicación en el Perú

#### 1.2.1.6 Nombres Comunes.

Es conocida como uchu sanango, así mismo es llamada de diferentes maneras según la región y la cultura. En España, se le denomina "Huevo de verraco"; entre la comunidad Huaorani, se le conoce como "jaén sananho" y "penoncahue"; en Quichua, los nombres son "sananho", "sanangillo" y "sickta"; en Cofán, se le llama "teteccu'cho tsettucu"; y en Ecuador, se le dice "yacu sanango". En Perú, es conocida como "Lagarto micunan", "Uchu sanango" y "Kúnakip" <sup>(16)</sup> <sup>(9)</sup>

#### 1.2.1.7 Usos.

Esta planta es muy valorada por las comunidades indígenas de la Amazonia occidental ecuatoriana por sus propiedades medicinales. La corteza se usa para tratar infecciones cutáneas mediante una infusión aplicada sobre la piel. Las hojas y el látex son utilizados para aliviar síntomas de gripes y resfriados, y el látex se emplea también en compresas para tratar abscesos. Para la diarrea, se prepara una decocción con la raíz machacada. En Colombia y Perú, se utiliza como febrífugo, emético, diurético y remedio para diversos males. En Venezuela, las hojas combaten el insomnio, y los Tikunas de Colombia la usan en infusión para dolores de estómago y diarreas, mientras que en Perú se trata el dolor de muelas. La planta ha demostrado tener propiedades antidiarreicas, antisépticas, antiinflamatorias y eméticas.

(17)

### 1.2.2 Alcaloides, Generalidades

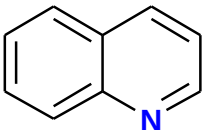
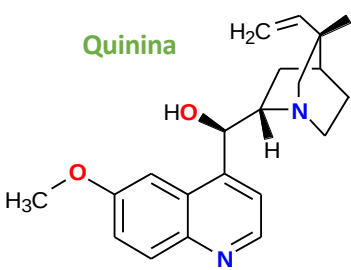
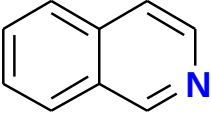
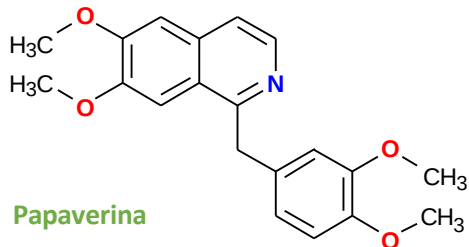
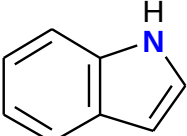
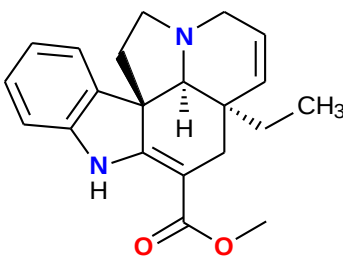
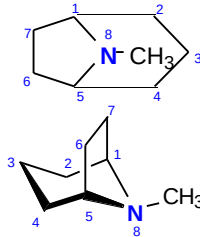
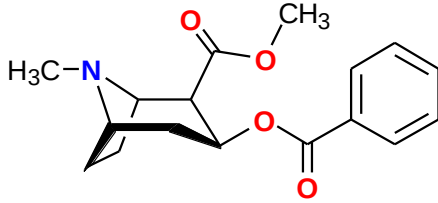
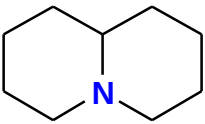
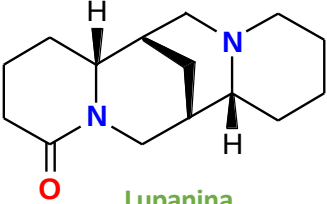
#### 1.2.2.1 Definición de Alcaloides.

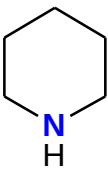
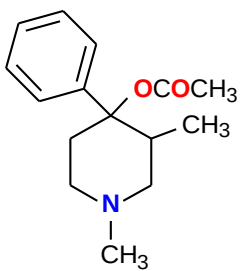
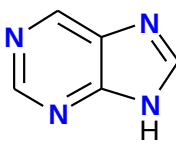
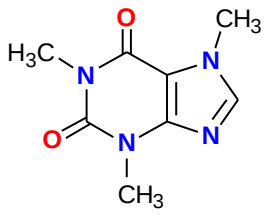
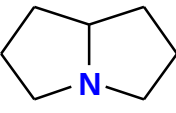
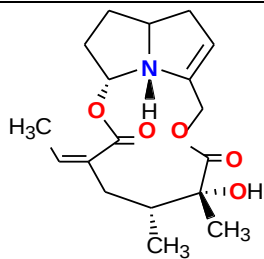
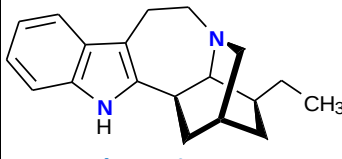
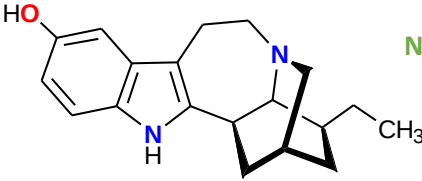
Los alcaloides son compuestos nitrogenados que se encuentran en ciertas plantas y se reportaron más de 15.000 alcaloides. Estos metabolitos son solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en su estructura molecular y exhiben actividad biológica. En su mayoría, los alcaloides son compuestos heterocíclicos, aunque también existen algunos compuestos nitrogenados alifáticos (no cíclicos), como la mescalina o la colchicina. Se estima que aproximadamente el 20% de las plantas vasculares, principalmente herbáceas dicotiledóneas, contienen alcaloides en su composición. En el caso de los seres humanos, los alcaloides desempeñan un papel crucial al generar respuestas fisiológicas y psicológicas a través de su interacción con los neurotransmisores. Aunque es importante tener en cuenta que la mayoría de los alcaloides son altamente tóxicos, por lo cual se recomienda evitar dosis elevadas. Sin embargo, en dosis bajas, estos compuestos poseen un valor terapéutico significativo, ya que pueden actuar como relajantes musculares, tranquilizantes, antitusivos o analgésicos <sup>(18)</sup>

### 1.2.2.2 Clasificación de Alcaloides.

Los alcaloides son categorizados según los anillos que se encuentren en su estructura molecular. <sup>(18)</sup>

**Tabla 1.** *Clasificación de Alcaloides*

| Clase de alcaloide                                                                                       | Ejemplos                                                                                                                                                                            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Quinolina</p>       | <p>Quina</p>   |
|  <p>Isoquinolina</p>    | <p>Papaverina</p>                                                                                |
|  <p>Isoquinolina</p>  |  <p>Vindolina</p>                                                                               |
|  <p>Tropano</p>       |  <p>Benzoilmetilecgonina (cocaína).</p>                                                         |
|  <p>Quinolizidina</p> |  <p>Lupanina</p>                                                                                |

| Clase de alcaloide                                                                                     | Ejemplos                                                                                                |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Piperidina</p>    |  <p>Prodina</p>       |
|  <p>Purina</p>        |  <p>Cafeína</p>       |
|  <p>Pirrolizidina</p> |  <p>Senecionina</p>   |
|  <p>Ibogaina</p>    |  <p>Noribogaina</p> |

Elaboración propia

#### 1.2.2.3 Características generales de los alcaloides.

Los alcaloides se distinguen por sus características, según la Universidad Alberto Hurtado (2011).

- Poseen estructuras complejas.
- Están compuestos por aminoácidos diferentes de los esteroides y diterpenos.
- Además de encontrarse en plantas, también existen alcaloides de origen animal y bacteriano.
- Son sustancias nitrogenadas.
- Además de la estructura de la efedrina, también presentan nitrógeno heterocíclico.
- Son en su mayoría de naturaleza alcalina, excepto la colchicina.
- Muchos de ellos son tóxicos, aunque hay excepciones como la betalaína.

- Son activos en dosis bajas.
- Pueden precipitar con ciertos reactivos.

#### 1.2.2.4 Alkaloides Indólicos.

Los alcaloides indólicos presentan una amplia gama de estructuras, que incluyen desde derivados simples de triptamina, carbazoles y  $\beta$ -carbolinas, hasta estructuras más complejas que involucran la combinación de triptamina con otro aminoácido, isopreno, policétido o molécula de terpeno. Los alcaloides indólicos monoterpénicos se generan genéticamente a partir de un precursor único, que es la unión del aminoácido triptófano con el monoterpene secologanina. <sup>(19)</sup>

#### 1.2.2.5 Propiedades Físicas y Químicas de los Alkaloides.

De acuerdo con estudios de investigadores <sup>(20)</sup>, se han identificado una serie de propiedades físicas y químicas que caracterizan a los alcaloides:

- Los alcaloides oxigenados se presentan en estado sólido y pueden cristalizarse a temperatura ambiente. Por lo general, son incoloros e inodoros, con un sabor amargo. En contraste, los alcaloides no oxidados suelen ser líquidos a temperatura ambiente, pueden ser arrastrados por corrientes de vapor de agua y algunos son volátiles y poseen un aroma distintivo.
- Los alcaloides tienen propiedades ópticas que les permiten desviar la luz polarizada.
- Las formas levóginas de los alcaloides suelen ser más activas.
- Los alcaloides son inherentemente inestables y son sensibles al calor, la luz y el oxígeno.
- Los alcaloides pueden formar sales con diversos ácidos, pero también pueden encontrarse en forma libre.

#### 1.2.3 Técnicas de Extracción.

Extracción:

La extracción es un proceso de separación que implica la transferencia de uno o más componentes de una fase a otra. En particular, cuando se desea separar un componente (soluto) de otro (inerte) en una mezcla sólida,

mediante el contacto con una fase líquida (disolvente) que tiene una selectividad de disolución, se denomina extracción o lixiviación sólido-líquido. (21)

El análisis de la transferencia de masa desempeña un papel fundamental en numerosos procesos químicos, ya que es necesario para la purificación de las materias primas, la separación de productos y subproductos, y también para evaluar los costos del proceso, realizar análisis y diseñar equipos industriales. Esto se destaca en la investigación realizada por (22)

Hay diversas metodologías disponibles para realizar la extracción, como la lixiviación, la extracción mecánica, la destilación, la extracción con disolventes, la extracción con gases en condiciones supercríticas, entre otras.

La selección del solvente depende de las características químicas de los metabolitos secundarios, garantizando así una extracción eficiente y selectiva. Se pueden emplear diversos solventes según la polaridad de los compuestos. Entre los solventes más utilizados se encuentran: (23)

- **Metanol y Etanol:** Eficaces para una variedad de metabolitos debido a su capacidad para disolver compuestos tanto polares como no polares.
- **Acetona:** Adecuada para la extracción de compuestos polares y semi-polares.
- **Hexano:** Utilizado principalmente para compuestos no polares, como lípidos y terpenoides.
- **Cloroformo:** Eficaz para extraer metabolitos no polares y algunos semi-polares.
- **Agua:** Ideal para compuestos altamente polares y solubles en agua, como fenoles y glicósidos.

#### 1.2.4 Técnicas Cromatográficas.

La cromatografía es una técnica utilizada para separar mezclas basadas en la capacidad única de cada componente para interactuar con otra sustancia. Consiste en el paso de una fase móvil (que contiene la muestra

disuelta en un solvente) a través de una fase estacionaria sólida. La fase estacionaria retarda el paso de los componentes de la muestra, lo que resulta en diferentes velocidades de migración y separación a lo largo del tiempo. Cada componente de la mezcla tiene un tiempo característico de retención, que es el tiempo que tarda en pasar por el sistema. Cuando el compuesto de interés tiene un tiempo de retención diferente al de los demás componentes de la mezcla, se logra su separación mediante la cromatografía. En la técnica de cromatografía de columna, se utilizan varias capas delgadas y continuas, denominadas platos teóricos, que permiten alcanzar un equilibrio de distribución de cada componente entre la fase móvil y la fase estacionaria. <sup>(24)</sup>

La mejora de la resolución en la cromatografía de columna se puede lograr aumentando el número de platos teóricos. Para lograr esto, se puede incrementar la longitud (L) de la columna, lo que prolonga el tiempo necesario para la separación, o reducir la altura teórica de cada plato. Cuanto mayor sea el número de platos teóricos en una columna cromatográfica, más eficiente será la columna en términos de separación. La teoría cinética de la cromatografía ofrece una explicación más realista que la teoría de los platos y permite un análisis cuantitativo de la forma y el ancho de las bandas. La forma gaussiana de las bandas se debe a la combinación de los movimientos aleatorios de las moléculas a medida que atraviesan la columna. Además de la cromatografía en columna, existen diversas técnicas cromatográficas, como la cromatografía en capa fina, la cromatografía preparativa, la cromatografía de exclusión molecular, la cromatografía de intercambio iónico, la cromatografía de alta resolución (HPLC) y la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas. <sup>(25)</sup>

La cromatografía es un método analítico empleado para separar y examinar los componentes de una muestra. Esta técnica se basa en la distinta afinidad que tienen los componentes de una mezcla por dos fases que no se mezclan: una fase estacionaria y una fase móvil. Hay varios tipos de cromatografía, cada uno con sus propias características y aplicaciones específicas: <sup>(26)</sup> <sup>(27)</sup> <sup>(28)</sup>

1. **Cromatografía de Capa Fina (TLC):** Una muestra se deposita en una placa recubierta con una capa delgada de material adsorbente. La fase móvil, que puede ser un solo solvente o una mezcla de solventes, asciende por la placa mediante capilaridad. Los componentes de la muestra se separan en función de su interacción con las fases estacionaria y móvil.
2. **Cromatografía de Columna:** En este método, la fase estacionaria se encuentra dentro de una columna. La muestra se aplica en la parte superior de la columna y es arrastrada a través de la fase estacionaria por la fase móvil. Los componentes se separan según su velocidad de migración a lo largo de la columna y su interacción con la fase estacionaria.
3. **Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC):** La muestra se disuelve en un solvente y se inyecta en una columna de alta resolución que contiene la fase estacionaria. La fase móvil, que puede ser un solo solvente o una mezcla, es bombeada a través de la columna a alta presión. Los componentes se separan dentro de la columna y se detectan al salir, permitiendo su identificación y cuantificación.
4. **Cromatografía de Intercambio Iónico:** En este tipo de cromatografía, la fase estacionaria contiene grupos funcionales cargados que intercambian iones con los componentes de la muestra. La separación de los componentes se basa en su carga y tamaño.

#### 1.2.5 Identificación estructural.

##### 1.2.5.1 Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

La resonancia magnética nuclear (RMN) es una técnica donde la muestra es colocada en un campo magnético intenso, uniforme y constante, seguido de la irradiación con radiación electromagnética en el rango de radiofrecuencia. Esto produce una respuesta conocida como "señal de resonancia". En pocas palabras, los núcleos atómicos excitados por las señales de radiofrecuencia emiten una señal magnética llamada "Decadencia de Inducción Libre" (FID), la cual se procesa matemáticamente para obtener la señal de resonancia de la muestra en cuestión. <sup>(29)</sup>

Las transformadas de Fourier, tanto unidimensionales como multidimensionales, son herramientas matemáticas que desempeñan un papel fundamental en la resonancia magnética nuclear (RMN). Esta técnica se basa en el estudio del momento angular intrínseco, o spin, de determinados núcleos atómicos, concepto enraizado en la física. En el campo de la química, la RMN proporciona una forma de descifrar los detalles más sutiles de la estructura molecular de un compuesto, así como de investigar su comportamiento dinámico. <sup>(30)</sup>

En una resonancia magnética, el campo magnético utilizado se genera mediante un imán y se considera una magnitud vectorial. Es relevante destacar que existe una relación significativa entre el tamaño del imán y la intensidad del campo magnético producido. En general, a medida que aumenta el tamaño del imán, también se incrementa la magnitud del campo magnético generado. <sup>(31)</sup>

La espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) nos proporciona datos acerca de los desplazamientos químicos de los núcleos de hidrógeno ( $^1\text{H}$ ) y carbono ( $^{13}\text{C}$ ) en un rango específico de valores, como 0-20 ppm para  $^1\text{H}$  y 0-220 ppm para  $^{13}\text{C}$ . Estos desplazamientos químicos nos ofrecen información sobre la naturaleza de los átomos de hidrógeno, como alifáticos, aromáticos, olefínicos, geminales y heteroátomos, así como sobre los átomos de carbono. <sup>(32)</sup>

La multiplicidad de la señal que se observa en el espectro de resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$ ) se determina según la cantidad de átomos de hidrógeno presentes y el patrón de distribución que tienen en la molécula. La cantidad de señales en un espectro de resonancia magnética nuclear de carbono indica el número de átomos de carbono presentes en la estructura molecular, mientras que la multiplicidad revela el número de átomos de hidrógeno unidos al carbono que es responsable de la señal. Las técnicas bidimensionales (2D) y tridimensionales (3D) ofrecen beneficios significativos y una visualización más rápida.

#### 1.2.5.2 Espectrometría de Masas (EM).

La espectrometría de masas es una técnica analítica poderosa utilizada para identificar y cuantificar compuestos químicos en una muestra.

Esta técnica se basa en la medición de la relación masa/carga ( $m/z$ ) de iones en fase gaseosa. Es ampliamente utilizada en diversas áreas de la ciencia y la industria, incluyendo la química, la biología, la medicina, la farmacéutica, análisis forense y la protección ambiental, debido a su capacidad para analizar con alta precisión y sensibilidad una amplia variedad de compuestos, desde moléculas pequeñas hasta proteínas grandes y complejas. <sup>(33)</sup>

#### 1.2.5.3 Espectroscopía de Infrarrojo (IR).

La espectroscopia infrarroja es una herramienta útil que facilita la determinación cualitativa de compuestos orgánicos e inorgánicos, permitiendo inferir las estructuras moleculares a partir de los grupos funcionales presentes en dichos compuestos. Esta técnica es ampliamente utilizada en la identificación de sustancias puras mediante análisis cualitativo <sup>(34)</sup>.

### 1.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.

#### **Alcaloides.**

Los alcaloides son sustancias de origen natural que poseen en su estructura molecular átomos de nitrógeno y carbono, y se encuentran comúnmente en plantas. Estos compuestos suelen presentar estructuras de anillos complejos <sup>(35)</sup>.

#### **Cromatografía.**

Se trata de un método físico utilizado para separar mezclas complejas, que se basa en el principio de retención selectiva. Su objetivo principal es separar los distintos componentes de la mezcla, lo que a su vez permite la identificación y cuantificación de dichos componentes <sup>(36)</sup>.

#### **Extracción por solvente**

Es una técnica empleada para la separación de productos orgánicos presentes en mezclas, ya sea en reacciones químicas o extraídas de fuentes naturales. Consiste en la separación de los componentes de la mezcla mediante el uso de un solvente, como el etanol <sup>(37)</sup>.

### **Extracción de Alcaloides.**

Se trata de una técnica empleada para recuperar un soluto de una solución mediante la mezcla con un solvente. El solvente utilizado debe ser insoluble o soluble en la solución que se desea extraer. Durante el proceso de extracción, se mezcla el solvente con la muestra y posteriormente se separan en dos fases líquidas inmiscibles <sup>(38)</sup>.

### **Espectrométricos.**

Estos métodos, empleados en química analítica, son de naturaleza instrumental y se fundamentan en la interacción de la radiación electromagnética, la cual está directamente relacionada con la magnitud física que se está evaluando. Por lo general, la cantidad medida en estos métodos es la intensidad de absorción. <sup>(39)</sup>

### **Espectroscópicos.**

Es una herramienta instrumental empleada tanto por físicos como por químicos con el objetivo de determinar la composición cualitativa y cuantitativa de una muestra. Esta técnica se basa en la interacción de la radiación electromagnética con la materia, y su análisis se realiza comparando los patrones o espectros conocidos de otras muestras <sup>(40)</sup>.

## CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

### 2.1. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS.

Los alcaloides se pueden extraer de la raíz de *Tabernaemontana markgrafiana* J. F. Macbr., conocida como uchu sanango, y es posible realizar su aislamiento e identificación estructural a partir de los extractos.

### 2.2. VARIABLES Y DEFINICIONES OPERACIONALES.

#### **Variable Independiente.**

- Extractos de la raíz de *Tabernaemontana markgrafiana* J. F. Macbr. Uchu sanango.

#### **Variable Dependiente**

- Tipos de metabolitos secundarios aislados e identificados

**Tabla 2.** Operacionalización de variables

| Variable                                                                              | Definición                                                                                                                 | Tipo por su naturaleza | Indicador                                                   | Escala de medición | Categoría                                     | Valores de la Categoría | Medio de verificación                                                                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-------------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| Extracto de la raíz de <i>Tabernaemontana markgrafiana</i> J. F. Macbr. Uchu sanango. | Una mezcla concentrada de sustancias que se obtiene mediante el proceso de maceración a partir de la planta.               | Cuantitativa           | % Rendimiento del extracto                                  | Intervalo          | Peso del extracto                             | g.                      | Cuaderno de registro de datos<br>Registro de pesos de los extractos                     |
| Tipos de metabolitos secundarios aislados e identificados                             | Los compuestos químicos producidos por la planta son aislados mediante la aplicación de diversas técnicas cromatográficas. | Cuantitativa           | Número de metabolitos secundarios aislados e identificados. | Intervalo          | Peso de los Metabolitos secundarios aislados. | g.<br>mg.               | Cuaderno de registro de datos (gramos y miligramos de metabolitos secundarios aislados. |

Elaboración propia

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. TIPO Y DISEÑO.

#### 3.1.1. Tipo de investigación

El enfoque de investigación será descriptivo, ya que se busca determinar e identificar las estructuras químicas de los compuestos aislados de la raíz de la planta *Tabernaemontana markgrafiana* J. K. Macbr. Uchu sanango. Además, se considera un enfoque prospectivo, ya que se espera identificar los metabolitos secundarios durante el desarrollo de los estudios de las especies en un período de tiempo determinado.

#### 3.1.2. Diseño de investigación.

Es descriptivos y prospectivo, en el cual se realizó la identificación de los compuestos químicos obtenidos y se procedió a la cuantificación de sus pesos.

### 3.2. DISEÑO MUESTRAL.

#### 3.2.1. Población de estudio

Para el estudio, se empleó un diseño de muestreo aleatorio simple, donde la recolección de muestras se llevó a cabo de manera aleatoria, considerando la población de árboles adultos. Se obtuvo resultados favorables en condiciones ideales.

La población objeto de estudio estuvo compuesto por las raíces de la especie vegetal *Tabernaemontana markgrafiana* J. F. Macbr., conocido como uchu sanango, perteneciente a la familia Apocynaceae.

#### 3.2.2. Muestra.

La recolección de las raíces de la especie vegetal *Tabernaemontana markgrafiana* J. F. Macbr., conocida como uchu sanango y perteneciente a la familia Apocynaceae, se llevó a cabo en la zona inundable de la Comunidad de Mazán, ubicado en el Departamento de Loreto.

### 3.3. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

Se emplearon diversas técnicas cromatográficas para aislar y purificar los alcaloides, incluyendo cromatografía en columna, cromatografía preparativa, cromatografía en capa fina y cromatografía de exclusión molecular. La elucidación estructural se llevó a cabo mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricos, comparando además los datos físicos obtenidos con los descritos en la literatura química.

#### 3.3.1. Técnicas Espectrométricos

Los métodos espectrométricos se centraron en medir la masa de las moléculas y sus fragmentos. Estos métodos analizaron la relación masa/carga ( $m/z$ ) de los iones con el fin de identificar y cuantificar los componentes presentes en una muestra <sup>(41)</sup>.

**Descripción:** En la espectrometría de masas (MS), se ionizaron las moléculas de la muestra, se separaron según sus masas utilizando campos eléctricos y magnéticos, y luego se detectaron. Esta técnica resultó ser altamente precisa para determinar la masa molecular y la estructura de las moléculas mediante el análisis de los patrones de fragmentación. <sup>(42)</sup>

#### **Descripción de Instrumentos Utilizados:**

##### **1. Espectrómetro de Masas (MS):**

Descripción. Este dispositivo midió la masa de las moléculas y sus fragmentos.

Función: Fue utilizado para identificar los alcaloides en *Tabernaemontana markgrafiana* basándose en su masa molecular y patrones de fragmentación.

Modelo: Waters Xevo G2-XS QTof

### 3.3.2. Técnica espectroscópica

Se basaron en la interacción de la luz con la materia. Estas técnicas midieron la absorción, emisión o dispersión de luz (u otras radiaciones electromagnéticas) para obtener información sobre la estructura y composición de las moléculas.

**Descripción:** En la espectroscopía, se utilizaron diferentes regiones del espectro electromagnético (infrarrojo, visible, ultravioleta, radiofrecuencia) para excitar las moléculas y estudiar cómo estas interacciones afectaban la energía de las moléculas. Estas técnicas proporcionaron información detallada sobre la estructura molecular y los grupos funcionales presentes. <sup>(43)</sup>.

#### **Descripción de Instrumentos Utilizados:**

##### **1. Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear (NMR):**

Descripción. Se utilizó los campos magnéticos para determinar la estructura molecular.

Función: Se utilizó para determinar la estructura molecular de los alcaloides mediante la interpretación de espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .

Modelo: Bruker Avance III HD 600 MHz NMR

##### **2. Espectrómetro Infrarrojo (IR):**

Descripción. Midió la absorción de luz infrarroja por la muestra

Función: Se empleó para identificar los grupos funcionales presentes en los alcaloides mediante la absorción de luz infrarroja.

Modelo. Perkin Elmer Spectrum 65 FT-IR

##### **3. Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible (UV-Vis):**

Descripción: Midió la absorbancia de luz ultravioleta y visible.

Función: Analizó las propiedades electrónicas de los alcaloides.

Modelo Típico: Shimadzu UV-1800.

### 3.4. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

#### 3.4.1. Materiales, Equipos y Reactivos

- **Materiales.**

- Columnas cromatográficas de vidrio de 500 mm, 1- 6 cm de  $\varnothing$
- Vasos de precipitado Schott Duran 10-500 mL
- Celdas cromatográficas de vidrio
- Pipetas Pasteur, Borosilicato Glass 230 mm
- Fiolas, Isolab 100 mL
- Viales ,1 a 10 mL.
- Embudos de filtración al vacío.
- Cápsulas de porcelana. 10 a 250 mL.
- Embudo de filtración simple. 50 mm a 150 mm
- Desecadores de vidrio
- Probetas. 10 ml a 1000 ml
- Erlenmeyer. 50 ml a 2000 ml
- Balones de fondo redondo de diferentes volúmenes y bocas.
- Peras de separación 50 ml a 2000 ml.

- **Adsorbentes.**

- Cromatofolio de capa fina de Silicagel con detector de U.V.
- Cromatofolios de capa fina de alúmina neutra con detector de U.V.
- Cromatofolios de capa gruesa de Silicagel y alúmina neutra con detector de U.V.
- Silicagel, alúmina con actividad II y III, alúmina actividad I básica y alúmina neutra para cromatografía de columna.
- Sephadex LH-20.

- **Solventes Orgánicos.**

- Etanol destilado
- Etanol absoluto sigma aldrich
- Metanol para análisis, sigma aldrich
- Cloroformo para análisis, sigma aldrich
- Hexano para análisis, sigma aldrich

- Acetato de etilo para análisis, sigma aldrich
- Diclorometano para análisis, sigma aldrich

➤ **Reactivos.**

- $\text{NH}_4\text{OH}$ , en solución 25%. Merck millipore
- $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro p.a. EMSURE, Supelco
- Ácido Clorhídrico fumante 37% (HCl). Merck millipore
- Reactivo de Dragendorff solución pulverizador. Merck millipore
- Anhídrido Acético ( $\text{CH}_3\text{COOCOCH}_3$ ). Merck millipore
- Ácido Sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Merck millipore
- Óleum solución pulverizador. Merck millipore

➤ **Instrumentos**

- Balanza electrónica digital.
- Equipo de destilación fraccionada, Merck millipore
- Agitador magnético, 50 A 1200 rpm, Thermo Scientific
- Hot plate, Heidolph 300°C máx.

➤ **Equipos.**

- Espectrómetro de masa, Waters Xevo G2-XS QToF (España)
- Resonancia Magnética Nuclear. Bruker Avance III HD 600 MHz NMR. (España)
- Rotavapor Buchi R-300. (Lipnaa-Perú)
- Estufa eléctrica. Eccocel (Lipnaa-Perú)
- Bomba de vacío. Vario select. (Lipnaa-Perú)
- Lámpara de U.V. UVLS-28 (Lipnaa-Perú)
- Campana de extracción de humus, C4. CEX 128. (Lipnaa-Perú)
- Baño termostático. Lauda Alpha. (Lipnaa-Perú)

### 3.4.2. Procedimiento Experimental.

#### 3.4.2.1. Recolección e Identificación de la especie vegetal.

La recolección de la raíz de *Tabernaemontana markgrafiana* J.F. Macbr., conocido como uchu sanango, se realizó a partir de árboles adultos en áreas que albergaban una abundante población de individuos, alejadas de las comunidades.

#### **3.4.2.2. Preparación de la muestra.**

La raíz de *Tabernaemontana markgrafiana* J. F. Macbr, recolectada e identificada fue transportada a las instalaciones de laboratorio de Investigación de Producto Naturales Antiparasitarios de la Amazonia (LIPNAA), donde se lavó y cortó en trozos pequeños, secada a temperatura de 20°C durante 15 días y luego fue molida y pesada, obteniendo un peso de 2,10 Kg, la que se utilizó para preparar los extractos.

#### **3.4.2.3. Preparación de extractos.**

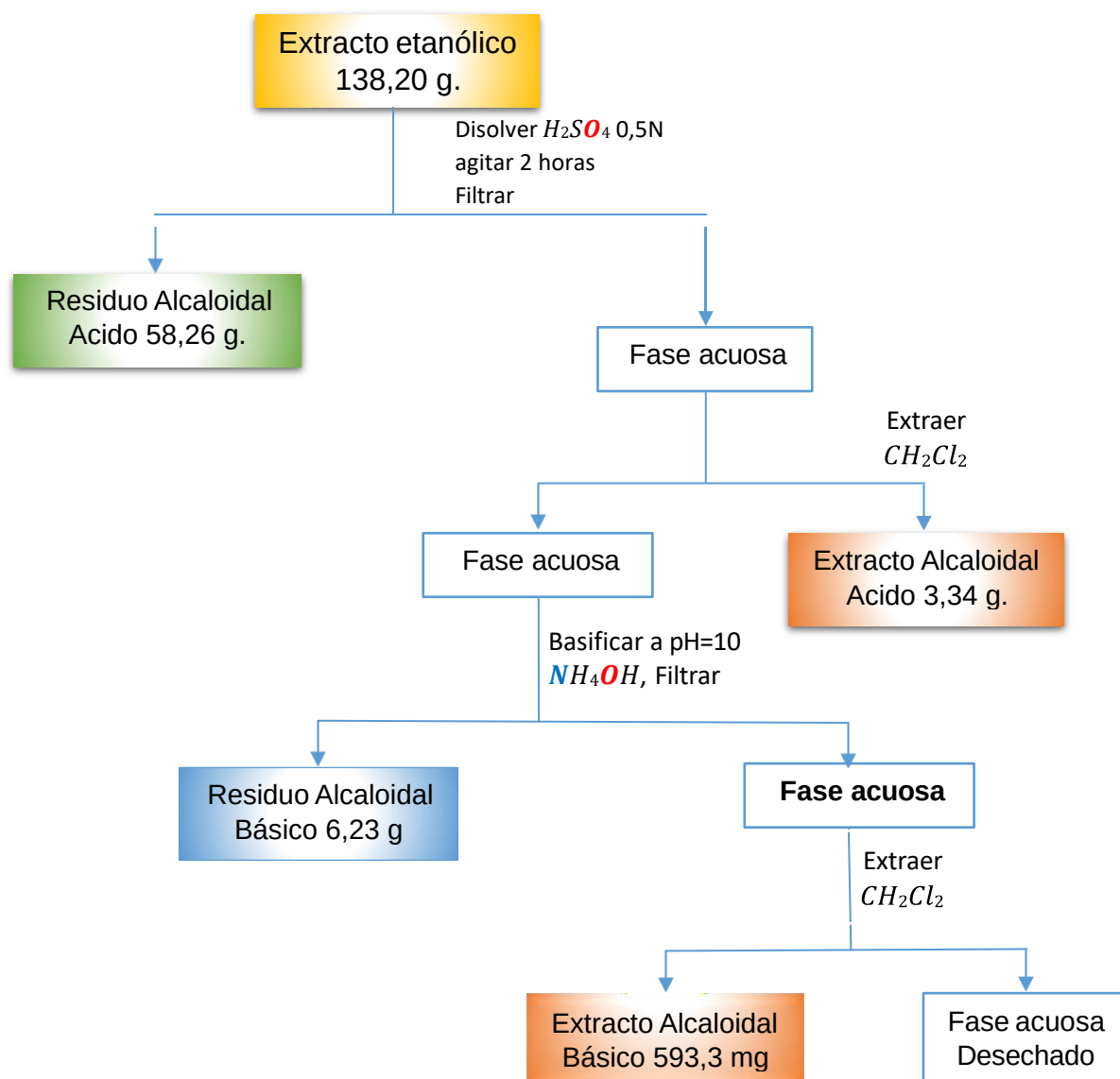
El extracto fue obtenido a partir de 2,10 kg de raíz de *Tabernaemontana markgrafiana* J. F. Macbr, conocido como uchu sanango, utilizando técnicas de extracción discontinua. Para ello, se añadieron 7,5 litros de etanol de 96° pre destilado, a las raíces y se dejaron macerar durante 72 horas. Posteriormente se filtraron y se concentraron a presión reducida en un rotavapor, este procedimiento se repitió 5 veces. Obteniéndose 138,20 g de extracto etanólico.

#### **3.4.2.4. Extracción de alcaloides.**

El extracto etanólico (138,20 g) se disolvió en agua ácida ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 N). La solución se agitó en un agitador magnético a temperatura ambiente durante 2 horas, se filtró, obteniéndose un residuo de 58,26 g, la fase acuosa se trasvasa a una pera de decantación a la cual se adiciona diclorometano, se agita y se separa la fase orgánica, la cual se concentra en un rotavapor a presión reducida. Este proceso se repitió 8 veces, obteniéndose 3,34 g de extracto alcaloidal ácido.

La fase acuosa se basifica con hidróxido de amonio al 25% ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) hasta un pH=9. La solución resultante se filtró y se obtuvo 6,23 g de un residuo alcaloidal básico y una fase acuosa. Se agregaron diclorometano a la fase acuosa, se agitó y se dejó en reposo hasta que se formaron dos fases. Se separó la fase orgánica (diclorometano) y se concentró, obteniendo 593,3 mg de extracto alcaloidal básico. Este proceso se detalla en el diagrama 1.

**Diagrama 1.** Extracción de alcaloides de la raíz de la *Tabernaemontana markgrafiana* J. K. Macbr UCHU SANANGO.



#### 3.4.2.5. Fraccionamiento cromatográfico.

A partir del extracto alcaloidal acido con 3,34g se inició el fraccionamiento cromatográfico, utilizando una columna cromatográfica de 4

cm de diámetro. La fase estacionaria utilizada fue alúmina de actividad II y III ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), y como fase móvil se emplearon mezclas de solventes (hexano-acetato) con polaridad creciente. Se procedió a recoger en un matraz de erlenmeyer, el solvente con la muestra (300 mL de volumen) y se lleva a

concentración reducida hasta sequedad en un rotavapor. Se obtuvieron 189 fracciones, de los cuales se unieron 9 (nueve) fracciones por cromatografía de capa fina, el revelado de las placas cromatográficas se hizo con el reactivo de Dragendorff teniendo como resultado: F (12,13,18) con un peso de 269,4 mg, F (14-16) con un peso de 117 mg, F (17) con un peso de 179,4 mg, F (19-36) con un peso de 101 mg, F (37-48) con un peso de 74,6 mg, **F (49-64) con un peso de 102,5 mg**, F (65-119) con un peso de 250,6 mg, F (120-167) con un peso de 425,4 mg, y F (168-189) con un peso de 291,9 mg.

#### 3.3.2.6. Aislamiento y purificación de los alcaloides del extracto ácido de la raíz de la *Tabernaemontana markgrafiana* J. F. Macbr Uchu sanango.

Se realizó el fraccionamiento de la fracción F (49-64) con un peso de 102,5 mg en una columna de diámetro interior de 2,5 cm, utilizando alúmina activada II y III ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) como fase estacionaria. La fase móvil consistió en una mezcla de hexano-acetato de etilo-metanol con polaridad creciente. Se obtuvo 101 fracciones de 50 mL cada una, mediante el análisis cromatográfico de las fracciones obtenidas, se pudieron agrupar 9 fracciones diferentes: F (11-18) de 4,6 mg, **F (19-22) de 4,4 mg la cual fue identificado como 19S Heyneanina**, tras realizar estudios de EM, RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , así como experimentos homo y experimentos 2D. (**CODIFICADO como H**), **F (23-28) de 18,9 mg**, F (50-57) de 3,2 mg, F (58-73) de 17,4 mg, y F (87-99) de 17,4 mg.

La fracción **F (23-28) de 18,9 mg**, se aplicó en un cromatofolio de Óxido de Aluminio 60 a escala preparativa. Se realizaron tres eluciones utilizando una mezcla de hexano-acetato de etilo (85:15) y se observaron los alcaloides mediante luz ultravioleta. Después de separar el alcaloide del adsorbente, se obtuvo PTLC-1 (23-28) con un peso de 13,8 mg.

La fracción PTLC-1 (23-28) de 13,8 mg y se purificó en una columna con un diámetro interior de 1 cm. La fase estacionaria utilizada fue  $\text{Al}_2\text{O}_3$  actividad II y III, mientras que la fase móvil consistió en una mezcla de hexano y acetato de etilo de polaridad creciente. Se recogieron fracciones de 50 mL,

y se lleva a concentración en un rotavapor. Se obtuvieron un total de 53 fracciones, de los cuales se unieron 8 fracciones por cromatografía de capa fina. Sin embargo, solo se consideraron relevantes las fracciones **F (19-20) con un peso de 5,4 mg**, fue identificada como **VOACRISTINA** mediante análisis de (EM), resonancia magnética nuclear (RMN),  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , así como experimentos homo y experimentos 2D. Cabe destacar que esta identificación se encuentra **CODIFICADO como "V"**.

Mediante el análisis de cromatografía de capa fina facilitó la agrupación de las siguientes fracciones: F (12,13,18) columna N°1, F (13-21) columna N° 02 y F (10-11) columna N° 03, obteniendo 314,6 mg de peso. Se realizó el fraccionamiento cromatográfico en una columna cromatográfica con un diámetro interno de 4 cm, utilizando como fase estacionaria el adsorbente óxido de aluminio actividad II y III ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), y como fase móvil una mezcla de solventes hexano-acetato de etilo de polaridad creciente, se recogieron 138 fracciones de 150 mL cada uno y fueron concentradas en un rotavapor hasta sequedad. Por cromatografía en capa fina (TLC), visualizadas bajo una lámpara de luz ultravioleta (U.V.) y reveladas con el reactivo de Dragendorff, se agruparon 9 fracciones: F (13-17, 21-28) con un peso de 18,8 mg, F (35-36) con un peso de 19,7 mg, **F (37-40) con un peso de 55 mg**, F (41-59) 16,7 mg., F (60) 4,5 mg., F (61-95) 23,6 mg, F (93,96-122) 8,8 mg, F (123-136) 18,4 mg, F (137-138) 2 mg.

La fracción **F (37-40) con un peso de 55 mg**, fue sometida a un proceso de purificación en una micro columna, utilizando adsorbente de alúmina 90 de actividad neutra ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ). Se utilizó una mezcla de solventes hexano-acetato de etilo con polaridad creciente como fase móvil. A partir de este proceso, se obtuvieron 36 fracciones. Mediante el análisis cromatográfico de estas fracciones, se logró agrupar dos de ellas: F (18-20) con un peso de 25,5 mg y **F (34-37) con un peso de 3,5 mg**.

La fracción **F (34-37) 3,5 mg** columna N° 09, después de realizar los estudios de EM, RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  experimentos homo y bidimensional se identificó como **VOACANGINA HIDROXIINDOLENINA. (CODIFICADO como VH)**. En el diagrama 2 y 3 se detalla el fraccionamiento y aislamiento

cromatográfico de los alcaloides de la especie en estudio. El resumen se indica en el diagrama N° 02 y 03.

**Diagrama 2.** Fraccionamiento, aislamiento y purificación de los alcaloides de la raíz de la *Tabernaemontana markgrafiana* J.F. Macbr.

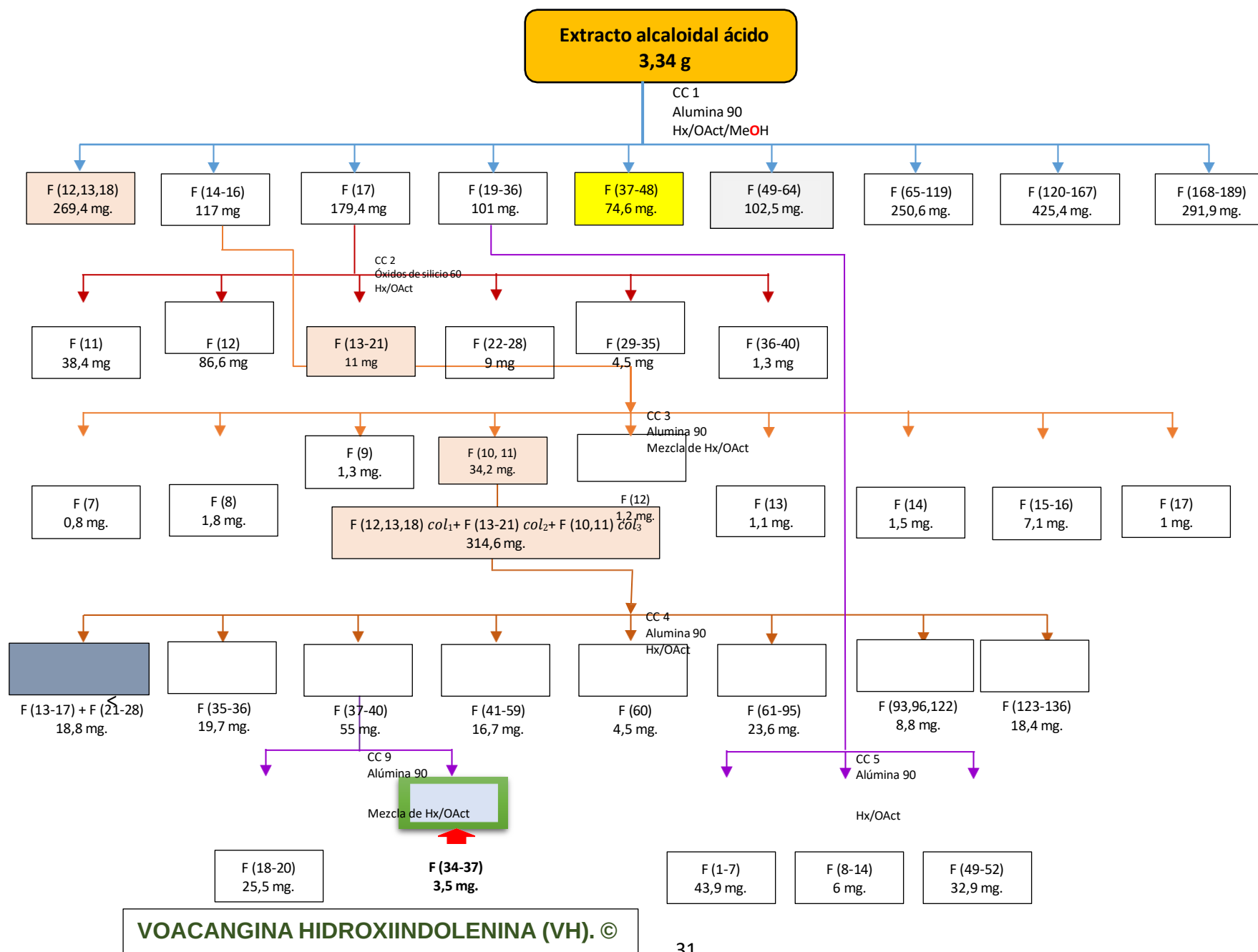
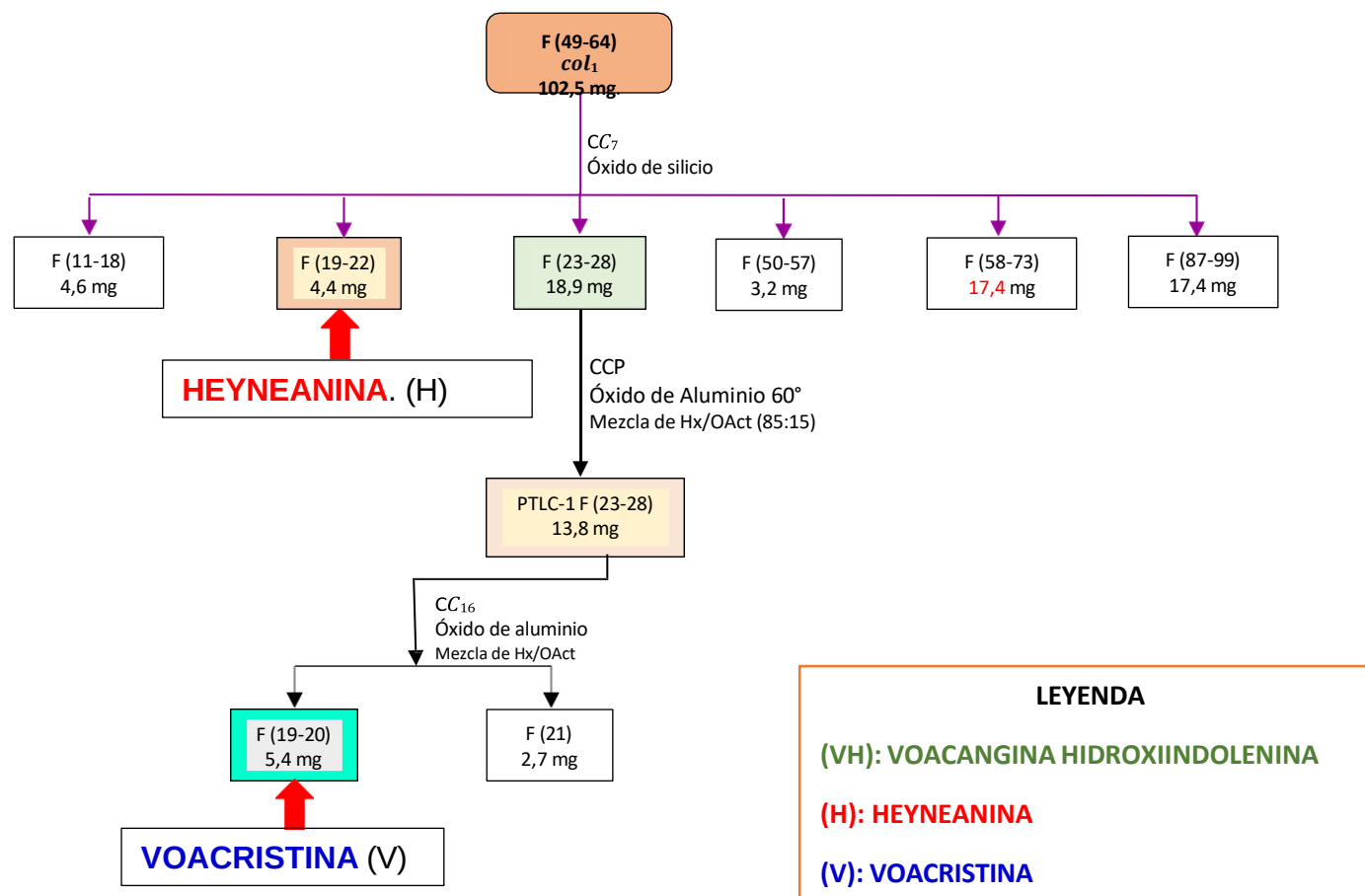


**Diagrama 3.** Fraccionamiento, aislamiento y purificación de los alcaloides de la raíz de la *Tabernaemontana markgrafiana* J.F. Macbr.



#### 3.4.2.6. **Determinación estructural de los alcaloides.**

Se obtuvieron tres alcaloides a partir del extracto alcaloidal ácido, los cuales son: 19 S HEYNEANINA, VOACRISTINA y VOACANGINA HIDROXIINDOLENINA.

La estructura de los alcaloides aislados se determinó mediante el análisis e interpretación de los datos espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y espectrometría de masas.

### 3.5. **PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS.**

#### 3.5.1. **Análisis de datos.**

La determinación estructural de los compuestos químicos que se aislaron se realizó mediante la interpretación de los datos espectrométricos (masas de baja y alta resolución), analizaremos la ionización de los fragmentos de las moléculas aisladas, además permitirá conocer el peso molecular de los compuestos.

Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , HSQ permitirá conocer como están conectados los carbonos con sus respectivos hidrógenos mediante el análisis de los desplazamientos químicos de los protones y carbonos.

### 3.6. **ASPECTOS ÉTICOS.**

La cantidad de muestra de la raíz de *Tabernaemontana Markgrafiana* J. F. Macbr. Uchu sanango utilizada en el presente estudio no implica el uso de grandes cantidades de material vegetal, de manera que no representa un riesgo para la extinción de la especie ni afecta la biodiversidad. Además, es importante destacar que no se realizarán pruebas experimentales en animales ni en seres humanos.

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS

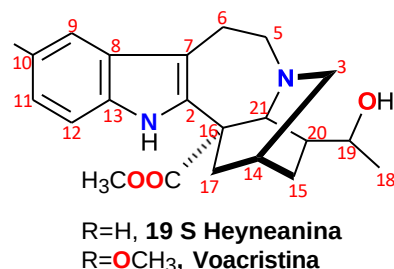
### 4.1. 19 S HEYNEANINA Y VOACRISTINA:

#### 19 S Heyneanina:

Aislado como sólido amorfo,  $[\alpha]_D = -29$  ( $\text{CHCl}_3$ ,  $c = 0.21$ )

EM:  $m/z$  354.0  $[\text{M}^+]$ , calculado para un

$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$ , 354.0



#### Voacristina:

Alcaloide aislado como sólido amorfo.

EM:  $m/z$  384.00  $[\text{M}^+]$ ,  $[\alpha]_D = -6.02$  ( $\text{CHCl}_3$ ,  $c = 4.33$ ), para una fórmula molecular  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$

**Tabla 3.** Datos de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de 19 S Heyneanina y Voacristina

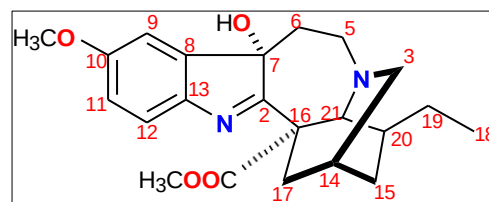
| Protón             | 19 S Heyneanina                              |                 | Voacristina                |                 |
|--------------------|----------------------------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|
|                    | $\delta\text{H}$                             | $^{13}\text{C}$ | $\delta\text{H}$           | $^{13}\text{C}$ |
| 1                  | 7,79 (1H, sa, N-H)                           |                 | 7,68 (1H, sa, N-H)         |                 |
| 2                  |                                              | 135,8 (s)       |                            | 136,7 (s)       |
| 3R                 | 3,00 (1H, m)                                 | 51,3 (t)        | 2,99 (1H, m)               | 48,6 (t)        |
| 3S                 | 2,81 (1H, d, $J = 10,0$ Hz)                  |                 | 2,82 (1H, da, $J = 10$ Hz) |                 |
| 5R                 | 3,45 (1H, m)                                 | 52,5 (t)        | 3,44 (1H, m)               | 49,1 (t)        |
| 5S                 | 3,15 (1H, m)                                 |                 | 3,17 (1H, m)               |                 |
| 6R                 | 3,17 (1H, m)                                 | 21,6 (t)        | 3,11 (1H, m)               | 34,2 (t)        |
| 6S                 | 3,07 (1H, m)                                 |                 | 3,05 (1H, m)               |                 |
| 07                 |                                              | 109,9 (s)       |                            | 88,3 (s)        |
| 08                 |                                              | 128,7 (s)       |                            | 144,4 (s)       |
| 09                 | 7,47 (1H, d, $J = 10,0$ Hz)                  | 118,6 (d)       | 7,15 (1H, d, $J = 5,0$ Hz) | 107,9 (d)       |
| 10                 | 7,10 (1H, t, $J = 10,0$ Hz)                  | 119,7 (d)       |                            | 159,1(s)        |
| 11                 | 7,15 (1H, t, $J = 10,0$ Hz)                  | 122,5 (d)       | 6,82 (1H, d, $J = 5,0$ Hz) | 113,7 (d)       |
| 12                 | 7,26 (1H, d, $J = 10,0$ Hz)                  | 110,6 (d)       | 6,91 (1H, s)               | 121,3 (d)       |
| 13                 |                                              | 135,6 (s)       |                            | 144,8 (s)       |
| 14                 | 2,03 (1H, m)                                 | 26,9 (d)        | 2,04 (1H, m)               | 27,0 (d)        |
| 15R                | 1,91 (1H, m)                                 | 21,3 (t)        |                            | 32,0 (t)        |
| 15S                | 1,57 (1H, m)                                 |                 | 1,59 (1H, m)               |                 |
| 16                 |                                              | 54,2 (s)        |                            | 58,5 (s)        |
| 17R                | 2,60 (1H, da, $J = 10,0$ Hz)                 | 37,2 (t)        | 1,97 (1H, m)               | 34,5 (t)        |
| 17S                | 1,97 (1H, dt, $J_1 = 5,0$ , $J_2 = 10,0$ Hz) |                 |                            |                 |
| 18                 | 1,11 (3H, d, $J = 5,0$ Hz)                   | 20,5 (q)        | 1,10 (3H, d, $J = 10$ Hz)  | 11,5 (q)        |
| 19                 | 4,12 (1H, q, $J = 5,0$ Hz)                   | 71,5 (d)        | 4,15 (1H, q, $J = 5,0$ Hz) | 26,5 (d)        |
| 20                 | 1,47 (1H, m)                                 | 39,7 (d)        | 1,46 (1H, m)               | 37,5 (d)        |
| 21                 | 3,58 (1H, sa)                                | 59,9 (d)        | 3,84 (1H, s)               | 58,5 (d)        |
| OCH <sub>3</sub>   |                                              |                 | 3,85 (3H, s)               | 55,7 (q)        |
| COOCH <sub>3</sub> | 3,74 (3H, s)                                 | 53,2 (q)        | 3,73 (3H, s)               | 53,1 (q)        |
| COOCH <sub>3</sub> |                                              | 175,1 (s)       |                            | 173,8 (s)       |

#### 4.2. VOACANGINA HIDROXIINDOLENINA.

F (22-29) = F (34-37) = F (22-37)

Alcaloide aislado como sólido amorfo,  $[\alpha]_D$

= (CHCl<sub>3</sub> c = 1,01).  $[\alpha]_D$  = -26 [1]



EM:  $m/z$  384.00  $[M^+]$ . Para un C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

**Tabla 4.** RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de Voacangina Hidroxiindolenina

**RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**

| Protón                             | $\delta$ H                                                | <sup>13</sup> C |
|------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------|
| 2                                  |                                                           | 186,8 (s)       |
| 3                                  | 2,74 (2H, sa)                                             | 48,6 (t)        |
| 5                                  | 2,97 (1H, dd, $J_1 = 4,0$ , $J_2 = 16,0$ Hz)              | 49,1 (t)        |
| 5'                                 | 3,50 (1H, ddd, $J_1 = 4,0$ , $J_2 = 8,0$ , $J_3 = 16$ Hz) |                 |
| 6                                  | 1,86 (1H, m)                                              | 34,2 (t)        |
| 6'                                 | 1,94 (1H, m)                                              |                 |
| 7                                  |                                                           | 88,3 (s)        |
| 8                                  |                                                           | 144,4 (s)       |
| 9                                  | 6,91 (1H, d, $J = 8,0$ Hz)                                | 107,9 (d)       |
| 10                                 |                                                           | 159,1 (s)       |
| 11                                 | 6,82 (1H, dd, $J_1 = 2,5$ , $J_2 = 8,0$ Hz)               | 113,7 (d)       |
| 12                                 | 7,36 (1H, d, $J = 8,0$ Hz)                                | 121,3 (d)       |
| 13                                 |                                                           | 144,8 (s)       |
| 14                                 | 1,91 (1H, s)                                              | 27,0 (t)        |
| 15                                 | 1,09 (1H, dd, $J_1 = 4,0$ , $J_2 = 12,0$ Hz)              | 32,0 (t)        |
| 15'                                | 1,97 (1H, m)                                              |                 |
| 16                                 |                                                           | 58,5 (s)        |
| 17                                 | 2,46 (1H, dt, $J_1 = 4,0$ , $J_2 = 16,0$ Hz)              | 34,5 (t)        |
| 17'                                | 2,74 (1H, d, $J = 16,0$ Hz)                               |                 |
| 18                                 | 0,87 (3H, t, $J = 8,0$ Hz)                                | 11,5 (q)        |
| 19                                 | 1,42 (2H, m)                                              | 26,5 (t)        |
| 20                                 | 1,42 (1H, m)                                              | 37,5 (d)        |
| 21                                 | 3,77 (1H, s)                                              | 58,5 (d)        |
| <u>O</u> CH <sub>3</sub>           | 3,82 (3H, s)                                              | 55,7 (q)        |
| <u>COO</u> CH <sub>3</sub>         | 3,70 (3H, s)                                              | 53,2 (q)        |
| <u>C</u> <u>OO</u> CH <sub>3</sub> |                                                           | 173,8 (s)       |

## CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

### 19 S HEYNEANINA.

La señal a  $\delta$ : 1,47 ( $^1\text{H}$ , m), 39,7 d, se asignó al H-20 por su conectividad espacial con los protones H-18, H-17S en el experimento NOESY, el protón H-21 por su desplazamiento químico a  $\delta$  3,58 (1H, sa) y 59,9 (d).

Las demás señales se asignaron por las correlaciones existentes de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , y por comparación con los datos espectroscópicos publicados en la bibliografía química <sup>(44)</sup> <sup>(45)</sup>

### VOACRISTINA

Alcaloide aislado como sólido amorfo, en su espectro de protón se observa un singlete ancho que corresponde a un **N**-H a  $\delta$  7,69 ppm y las señales a  $\delta$ : 7,15 (1H, d,  $J=5,0$  Hz), 6,82 (1H, d,  $J=5,0$ Hz), 6,91 (1H, S), junto con las señales a  $\delta$  d 107,9 d, 113,7 d y 121,3 d, corresponden a los protones aromáticos (9, 11, 12) en un anillo bencénico mono sustituido, y que evidencia la presencia de un anillo indólico, la señal a  $\delta$  3,85 (3H, s), 55,7 (q) de un metóxilo en anillo aromático, 3,73 (3H, s), 53,1 q y 173,8 s que corresponde al éster. Las resonancias para carbono a d 107,9 d, 159,1 s, 113,7 d, 121,3 d y 144,8 s, asignables al C-9, C-10, C-11, C-12 y C-13 respectivamente, señalaron la presencia de un grupo Indólicos funcionalizado en el C-10. Las señales a  $\delta$ : 3,17 y 3,44 ppm fueron asignados a (2H, m, H-5S y 5R), adyacentes a un nitrógeno.

Las demás señales fueron asignadas teniendo en cuenta los datos espectroscópicos y Espectrométricos y las correlaciones  $^1\text{H}$ -  $^{13}\text{C}$  mono y bidimensionales. <sup>(51)</sup> <sup>(52)</sup>51) (Tabla 5)

**Tabla 5.** Datos de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC, HMBC de Voacristina

| $\delta$ ( $J_{\text{H-H}}$ en Hz) | HSQC $\delta$  | HMBC                                            |
|------------------------------------|----------------|-------------------------------------------------|
| 7,69 sa (N-H)                      | 136,7s (C-2)   | 109,8 s, 129,0 s, 136,7 s                       |
| H-3R 2,99 m                        | 51,2 t         | 52,4 t                                          |
| H-3S 2,88 da (10,0 Hz)             | 31,2 t         | 23,1t, 37,2 t, 52,4 t                           |
| H-5R 3,44 m                        | 52,4 t         | 21,7 t, 51,2 t, 60,0 d, 109,8 s                 |
| H-5S 3, 17 (m)                     | 52,4 t         | 21,7 t, 60,0 d, 109,8 s                         |
| H-6R 3,11(m)                       | 21,7 t         | 109,8 s, 120,0 s, 136,7 s                       |
| H-6S 3,05 m                        | 21,7 t         | 52,4t, 109,8 s, 120,0 s, 136,7 s                |
|                                    | 109,8 s (C-7)  |                                                 |
|                                    | 129,0 s (C -8) |                                                 |
| H- 9 7,15 d (5,0)                  | 111,4 d        | 129 s, 154,3 s                                  |
| H-11 6,82 d (5,0)                  | 100,8 d        | 112,4 d, 130,7 s, 154,3 s                       |
| H-12 6,91 s                        | 112,4 d        | 100,8 d, 130,7 s, 154,3 s                       |
|                                    | 136,7 s (C-13) |                                                 |
| H-14 2,04 (m)                      | 26,9 d         | 23,1 t, 54,3 s                                  |
| H-15R 1,59 (m)                     | 23,1 t         | 26,9 d, 37,2 t, 71,5 d                          |
| H-15S 1,91 (m)                     | 23,1 t         | 39,7 d, 26,9 d, 51,2 t                          |
|                                    | 54,3 s (C-16)  |                                                 |
| H-17S 1,97 (m)                     | 37,0 t         | 23,1 t, 26,9 d, 51,2 t, 54,3 s, 1367 s, 175,1 s |
| H-17R 2,60 (m)                     | 37,2 t         | 23,1 t, 136,7 s                                 |
| H-18 1,10d (10,0)                  | 20,5 q         | 39,7 d, 71,5 d                                  |
| H-19 4,15 q (5,6)                  | 71,5 t         | 23,1 t, 60,0 d                                  |
| H-20 1,46(m)                       | 39,7 d         | 23,1 t, 54,3 s                                  |
| H-21 3,85 (s)                      | 60,0 d         | 23,1 t, 39,7 d, 51,2 t, 54,3 s                  |
| COCH <sub>3</sub> 3,74 (s)         | 56,2 q         | 1751 s                                          |
| COOCH <sub>3</sub> 3,73 (s)        | 174,8 s        |                                                 |
| COOCH <sub>3</sub>                 | 53,1 s         | 154,3 s                                         |

## VOACANGINA HIDROXIINDOLENINA

Alcaloide aislado como sólido amorfo, con un ion molecular de [ M+ 384], en su espectro de RMN, se observa la presencia de las señales a  $\delta$  3.82 (3H, s,)  $\delta$  55.7, q y la señal a  $\delta$  3.70 (3H, s) (53,1 q; 173.8 s) que corresponde a las señales de un grupo metoxilo y un grupo acetato respectivamente. La posición del grupo OH en el C-7, se determinó por la gran diferencia en los cambios químicos de la RMN 1H del CH<sub>2</sub> (C-17) y H - C (21), observados a campo bajo que podrían atribuirse a la proximidad espacial del oxígeno (O) con el C-21. El espectro de RMN H1, mostró las señales características para un anillo de benceno a  $\delta$  6.91 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-9), 6.82 (1H, dd, J<sub>1</sub> = 2.5, J<sub>2</sub> = 8.0 Hz, H-11), 7.36 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-12). En el espectro de RMN de <sup>13</sup>C, se observan 22 señales de Carbonos: siete (07) carbonos cuaternarios, seis (06) carbonos metilenos, seis (06) metinos y tres (03) metilos <sup>(49)</sup> (50)

## CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

1. En la presente tesis se describen, a partir de la corteza de *Tabernaemontana markgrafiana*, los métodos de extracción, métodos de aislamiento, purificación y determinación de las estructuras químicas de los compuestos aislados.
2. Se ha aislado 03 alcaloides indólicos: Voacristina, voacangina Hidroxiindolenina y 19 S Heyneanina. Fueron identificados por sus datos espectroscópicos y Espectrométricos.
3. El alcaloide 19 S Heyneanina y Voacristina está clasificado como alcaloides indólicos  $\beta$  carbolinas, en función a su ruta biosintética y el alcaloide voacangina Hidroxiindolenina, están clasificado como un alcaloide indólico tipo aspidosperma, sub tipo Iboga.
4. Finalmente, los alcaloides son sustancia que exhiben una amplia gama de actividades biológicas, y la investigación fitoquímica enfocado en estos compuestos desempeña un papel fundamental en el avance científico, la industria farmacéutica en el campo de la salud.

## **CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES**

1. Realizar una comparación entre los diferentes tipos de metabolitos secundarios que pueden estar presentes en las raíces de la especie en estudio y en otras especies pertenecientes al género *Tabernaemontana*.
2. Realizar estudios fitoquímicos de otras especies de *Tabernaemontana* (hojas, corteza, corteza de la raíz, flores, frutos), con el de identificar posibles diferencias o similitudes en su composición química. Para su posterior evaluación biológica.

## CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

1. **SIERRA, MA, y otros.** *Productos Naturales: Metabolitos secundarios y aceites esenciales.* [ed.] Entrelibros e-book solutions. Bogotá D.C – Colombia : Fundación Universitaria Agraria de Colombia - UNIAGRARIA, 2018.
2. **LOCK, Olga.** *Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales.* Tercera edición. Lima : Fondo Editorial PUCP, 2016.
3. **MELACHEU Laura, Gertrude Foudjo, y otros.** *A new cytotoxic indole alkaloid from Tabernaemontana inconspicua stapf.* China : Natural Product Research, 2019.
4. **KUMAR, Ashish, y otros.** *Phytochemical investigations and evaluation of antimutagenic activity of the alcoholic extract of Glycosmis pentaphylla pentaphylla and Tabernaemontana coronaria.* China : Natural Product Research,( 2018 ). Vol. 32, No. 5, 582–587, 2018. págs. 582-587. Vol. 32.
5. **DENG, Yan, y otros.** *Three New Indole Alkaloids from Tabernaemontana divaricata.* China : Natural Products and Bioprospecting, 2018. págs. 183-187. Vol. 8.
6. **CUEVA, JV.** *Inhibición de la actividad hemolítica del veneno de Bothrops atrox por los extractos de Tabernaemontana sananho Ruiz & Pav. y Mucuna cf. elliptica (Ruiz&Pav)DC.* Tesis de título. [ed.] Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales. Quito-Ecuador : Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito, 2017.
7. **ZHANG, Bing- Jie, y otros.** *Cytotoxic indole alkaloids from Tabernaemontana officinalis.* China : Phytochemistry, 2015. Vol. 120.
8. **LIM, Kuan-Hon, Raja, Vijay J y Bradshaw, Tracey D.** *Ibogan, Tacaman, and Cytotoxic Bisindole Alkaloids from Tabernaemontana. Cononusine, an Iboga Alkaloid with Unusual Incorporation of a Pyrrolidone Moiety.* Selangor, Malaysia : Journal Natural Product, 2015. págs. 1129-1138. Vol. 78.
9. **GUPTA, MP, SANTANA, AI y ESPINOSA, A.** *Plantas Medicinales de Panamá.* Panamá : Universitaria de la ... Ciencia y Técnica, 2013.

10. **MUSEUM, The Field.** Flora of Ucayali, Peru: Tabernaemontana markgrafiana J. F. Macbr., Peru, J. G. Graham 1068, F. 2011. Creador: Field Museum of Natural History - Botany Department.
11. **ROSKOV, Y, y otros.** Species 2000 & ITIS Catalogue of Life. 2020.
12. **HASSLER, M.** World Plants: Synonymic Checklists of the Vascular Plants of the World. 2018. Catalogo.
13. **LESCURE, J, BASLBEV, H y al., et.** *Plantas útiles en la Amazonia Ecuatoriana. Ecuador.* [ed.] Herbario QCA, Dpto. de Ciencias Biológicas Balslev. Ecuador : PRONAGRES, ORSTOM, P.U.C.E., I.C.R.A.E., 2016.
14. **CORREA, M, GALDAMES, C y STAPF, M.** *Catálogo de las plantas vasculares de Panamá.* primera. Colombia : Editora Novo Art, S.A, 2004.
15. **FLORES Bendezú, Ymber.** *Árboles nativos de la Región Ucayali PERU.* Pucallpa-Perú : Estación Experimental Agraria Pucallpa - INIA Pucallpa, Perú, 2014.
16. **PASTOR, S, y otros.** *Informe Nacional para la conferencia técnica Internacional de la FAO sobre los recursos Fitogenéticos.* Lima : Food and Agriculture Organization (FAO), 1996.
17. **GUZMAN, Yolanda.** *Plantas medicinales de la Amazonía Peruana. Estudio de su uso y cultivo.* San Martin : Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, 1995.
18. **ÁVALOS García, A y Pérez-Urria, E.** *Metabolismo secundario de plantas.* Madrid-España : Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal., 2009. Vol. 2. SSN: 1989-3620.
19. **LOYOLA-VARGAS, Víctor M, y otros.** *Biosíntesis de los alcaloides indólicos. Una revisión crítica.* Ciudad de México : Revista de la Sociedad Química de México, 2004. ISSN 0583-7693.
20. **BENITEZ, G.** *Alcaloides, Concepto, generalidades, propiedades físico-químicas. Métodos de estudio. Clasificación.* 2017. págs. 1-12. Vol. XII.

21. **GARCEL Puyans, Leonel, Díaz García, Armando y Suris Conde, Gustavo.** *Transferencia de cantidad de movimiento, calor y masa.* Habana-Cuba : Pueblo y Educación, 1992. ISBN 978-959-13-0358-5 .
22. **WELT, James R, . Wicks, Charles E y Wilson, Robert E.** *Fundamentos de transferencia de calor y amasa.* Mexico : Editorial Limusa S.A, Noriega. págs. 6-804.
23. **HARBONE, J. B.** *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis.* s.l. : Springer, 1998. págs. 6-7.
24. **ANGURELL, Inmaculada, y otros.** *Operaciones básicas en el Laboratorio de Química.* Barcelona-España : Universitat de Barcelona, 2020.
25. **UNIVERSIDAD DE BARCELONA.** Fundamento de la técnica. Cromatografía. *Cromatografía.* [En línea] Universitat de Barcelona, 4 de abril de 2013. [Citado el: 6 de Diciembre de 2020.] [http://www.ub.edu/oblq/oblq%20castellano/cromatografia\\_fonament.htm](http://www.ub.edu/oblq/oblq%20castellano/cromatografia_fonament.htm).
26. **SKOOG, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R.** *Principles of Instrumental Analysis.* Cengage Learning. Novena. Reino Unido : Cengage Learning., 2017. ISBN 978-607-519-937-6.
27. **AHUJA, S y Dong, M. W.** *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC (Vol. 156).* Elsevier. s.l. : Elsevier, 2006. Vol. 6. ISBN: 9780120885473.
28. **SNYDER, L. R, Kirkland, J. J y Glajch, J. L.** *Practical HPLC Method Development.* John Wiley & Sons. EE.U.U : Wiley & Sons, 1997. ISBN: 978-0-471-00703-6.
29. **JUÁREZ Vera, Natividad.** *Métodos instrumentales.* México : s.n., 2016.
30. **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.** Curso Fundamentos teóricos de RMN/Básico. *Instituto de Química. site web.* [En línea] IQ-UNAM, CU, 24 de Mayo de 2019. [Citado el: 7 de Diciembre de 2020.] <https://www.iquimica.unam.mx/curso-fundamentos-teoricos-de-rmn>.
31. **SACRISTÁN, Carlos.** Los campos electromagnéticos en las resonancias magnética. *Resonancia Magnética.* [En línea] enero de 2020. [Citado el: 11 de junio de 2023.] <https://hospitecnia.com/servicios-hospitalarios/servicios-centrales->

diagnostico-y-tratamiento/diagnostico-por-la-imagen/resonancia-magnetica/campos-electromagneticos-resonancias-magneticas/.

32. **CASTELL, J.** *Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear*. Valencia : Universidad de Valencia, 2019.

33. **SALGADO, A.** *Espectrometría de masas*. [En línea] 2016. [Citado el: 17 de febrero de 2020.] <https://es.slideshare.net/AreliSalgado/espectrometra-de-masas-61970154>.

34. **SAVIN, A.** *Espectroscopia de infrarrojo*. [En línea] 2020. [Citado el: 17 de Febrero de 2020.] <https://www.quimicaorganica.org/blog-usuarios-quimica-organica/924-espectroscopia-de-infrarrojo.html>.

35. **ÁVALOSA, G y CARRIL, Pérez-Urria.** *Metabolismo secundario de plantas*. 3:119-145, 2009, Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal., Vol. 2.

36. **RODRIGUEZ, F.** *Técnicas de cromatografía*. [En línea] 2017. [Citado el: 17 de Febrero de 2020.] <https://www.franrzm.com/tecnicas-de-cromatografia/>.

37. **FERNANDEZ, G.** Extracción. *Química orgánica. extracción*. [En línea] 2012. [Citado el: 18 de febrero de 2020.] <http://www.quimicaorganica.net/extraccion.html>.

38. **HUERTA, S.** Extracción líquido-líquido para la recuperación de biomoléculas. *Extracción líquido-líquido para la recuperación de biomoléculas*. [En línea] 2020. [Citado el: 18 de febrero de 2020.] [http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/sho/Extraccion\\_Liq-Liq-PIS.pdf](http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/sho/Extraccion_Liq-Liq-PIS.pdf).

39. **PEREZ, G.** *Métodos espectrométricos*. [En línea] 1996. [Citado el: 17 de febrero de 2020.] [https://www.espectrometria.com/mtodos\\_espectromtricos](https://www.espectrometria.com/mtodos_espectromtricos).

40. **MORALES, D.** *Metodos espectroscopicos*. [En línea] 2018. [Citado el: 17 de febrero de 2020.] <https://es.slideshare.net/derlystefania/metodos-espectroscopicos>.

41. **GROSS, J. H.** *Mass Spectrometry: A Textbook*. Tercera. Reino unido : Springer, 2017.

42. **DASS, C.** *Principles and Practice of Biological Mass Spectrometry*. . Estados Unidos : Wiley., 2007.

43. **INSTITUTO Europeo de Química, Física y Biología.** ¿Qué es la espectroscopía?: Tipos y técnicas principales. *Espectroscopía*. [En línea] 17 de Noviembre de 2021. [Citado el: 30 de mayo de 2024.] <https://ieqfb.com/que-es-la-espectroscopia-tipos-y-tecnicas/>.
44. **KAN Christiane, Henri- Philippe Husson, Siew-Kwong Kan and Mauri LOUNASMAA.** *Planta Medica*. 1981. Vol. 41.
45. **RASTOGI Kameshh, RANDHIR S. Kapil and SATYA P. Popli.** *Phytochemistry*. 1980. págs. 1209-1212. Vol. 19.
46. **HELENE B. Nielsen, Alan Hazell, Felipe Ghia and kurt B. G. Torsell ).** *Indole Añkaloids and Terpenoids from Tabernaemonta Markgrafiana*. s.l. : Phytochemistry, 1994. Vol. 37. N6.
47. **JUCIMAR J. de Souza, Leda Mathias, Braz-filho Raimundo and Ivo J. curcino VIERA.** *Two New Indole Alkaloids and Terpenoids, from tabernaemontana histrix STEUD (Apocynaceae)*. s.l. : Helvetica Chimica Acta, 2010. págs. 422-428. Vol. 93.
48. **VIDAL, E y RICOPA, HE.** *aislamiento e identificación estructural de alcaloides a partir de hojas y tallos de tabernaemontana siphilitica "Lobo Sanango" utilizado como antimalárico en la región Loreto. Tesis de titulo*. [ed.] Facultad de Ingenieria Química. Iquitos-Perú : Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, 2013.
49. **Alberto Mandinaveitia,** Gabriel de la Fuente Antonio Gonzáles (1998). The absolute Configuration at C (7) of Voacangine Hidroxiindoline, Helvetica Chimica Acta, Vol. 81, pp.1645-1653.
50. **Helene B. Nielsen, Alan Hazell, Rita Hazell,** Felipe Ghia and Kurt B. G. Torsell (1994), Índole ALKaloids and Terpenoids from Tabernaemontana MarKgrafiana, Phytochemistry, Vol. 37; N° 6, pp 1729-1735.
51. V. S. Prakash Chaturvedula, Shannon Sprague ( 2003). Jennifer K. Schilling, and David G. I. Kingston. New Cytotoxic Indole Alkaloids from Tabernaemontana calcarea from the Madagascar Rainforest, J. Nat. Prod., 66, 528-531
52. Toh-Seok Kam and Kooi-Mow Si (2002). Five New Iboga Alkaloids from Tabernaemontana corymbosa, J. Nat. Prod, vol. 65, 669-672

## ANEXOS

**Figura 4.** Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Protón de 19 S Heyneanina

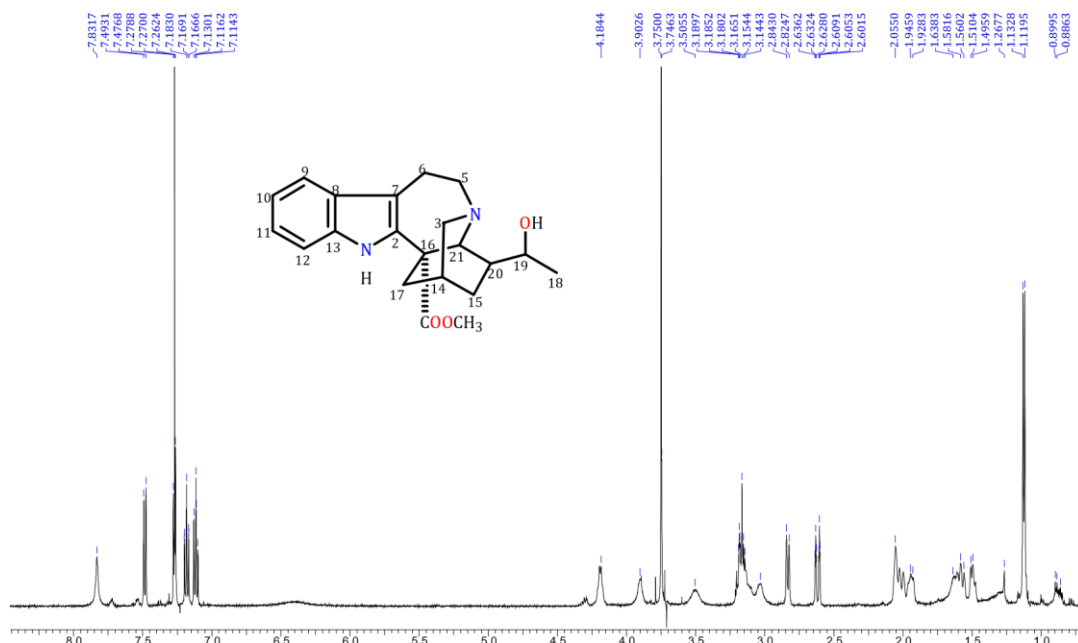


**Figura 5.** Espectro de Masas 19 S Heyneanina

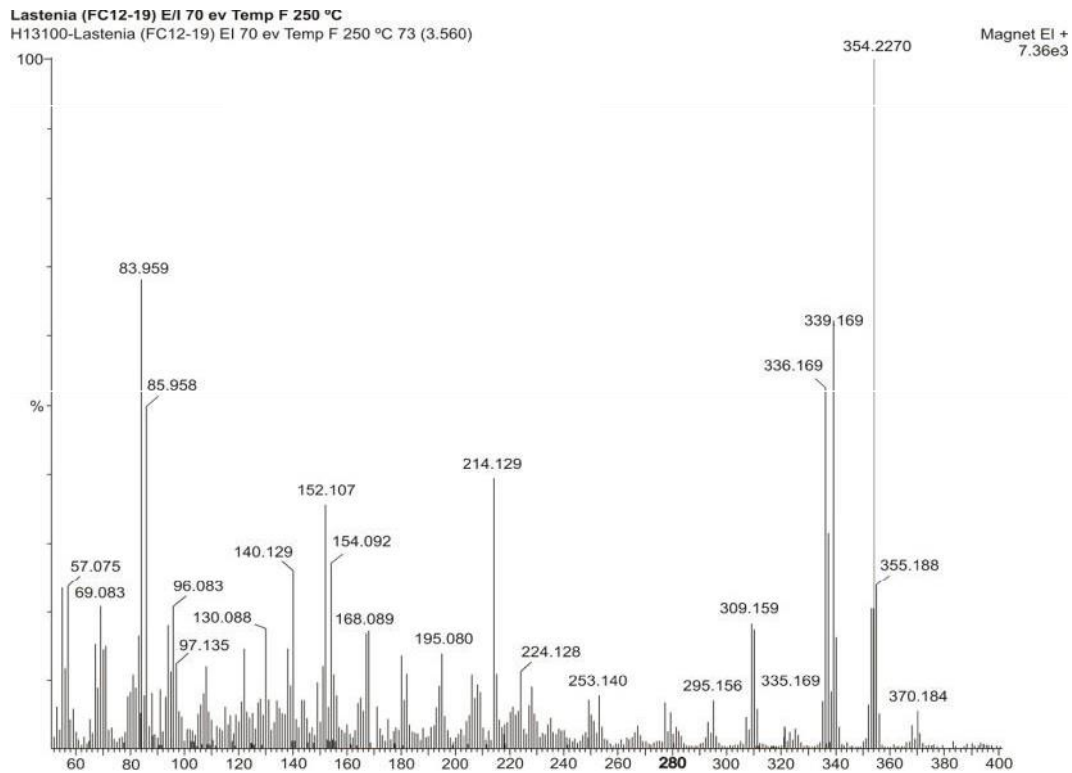


figura 6. Espectro de resonancia Magnética Nuclear de  $^{13}\text{C}$  y  $^{19}\text{S}$  Heyneanina

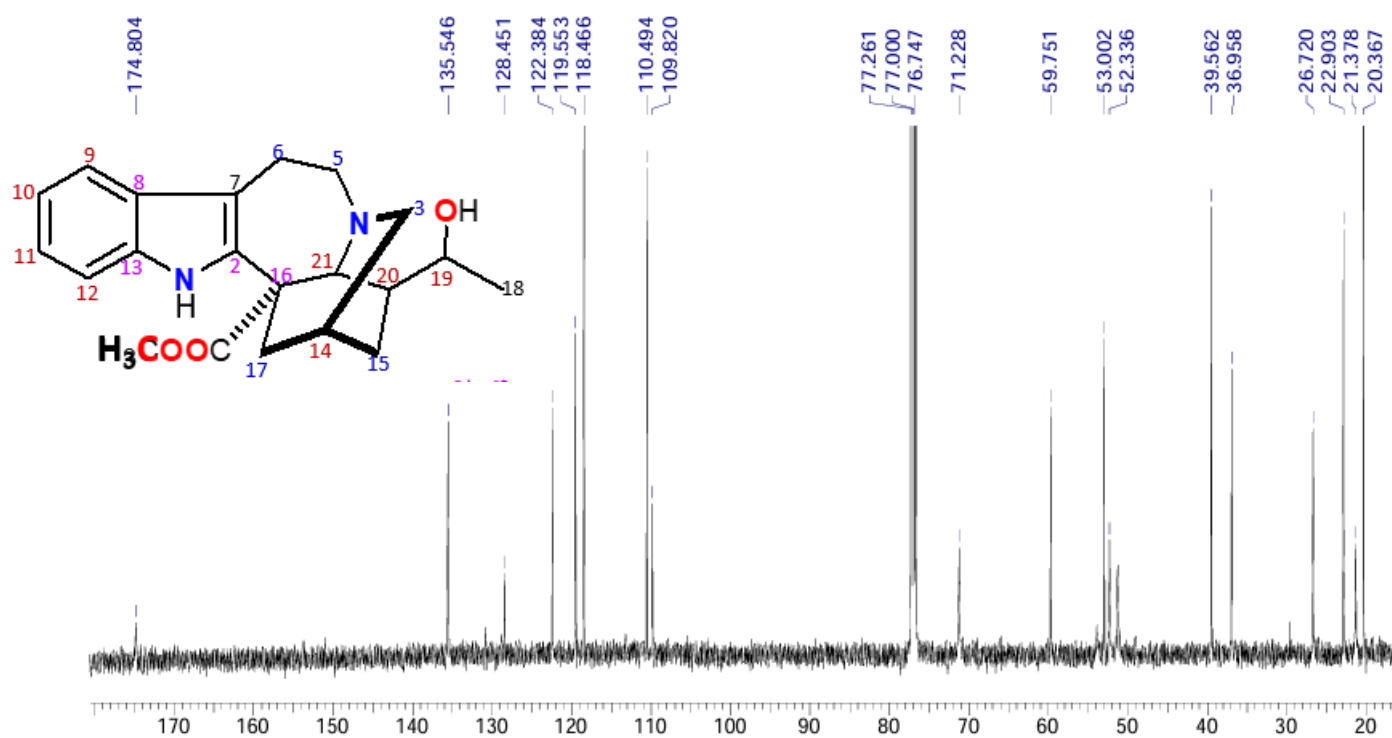


Figura 7 Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  de Voacristina

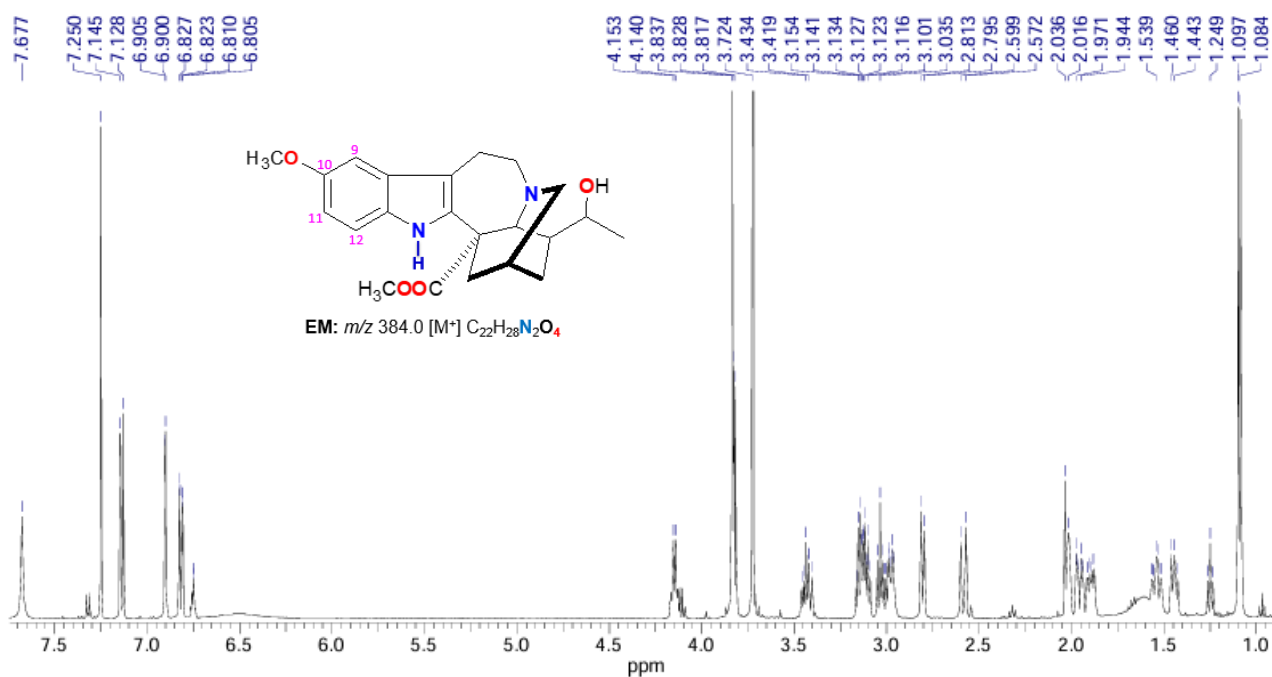


**Figura 8.** Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de  $^{13}\text{C}$  de Voacristina

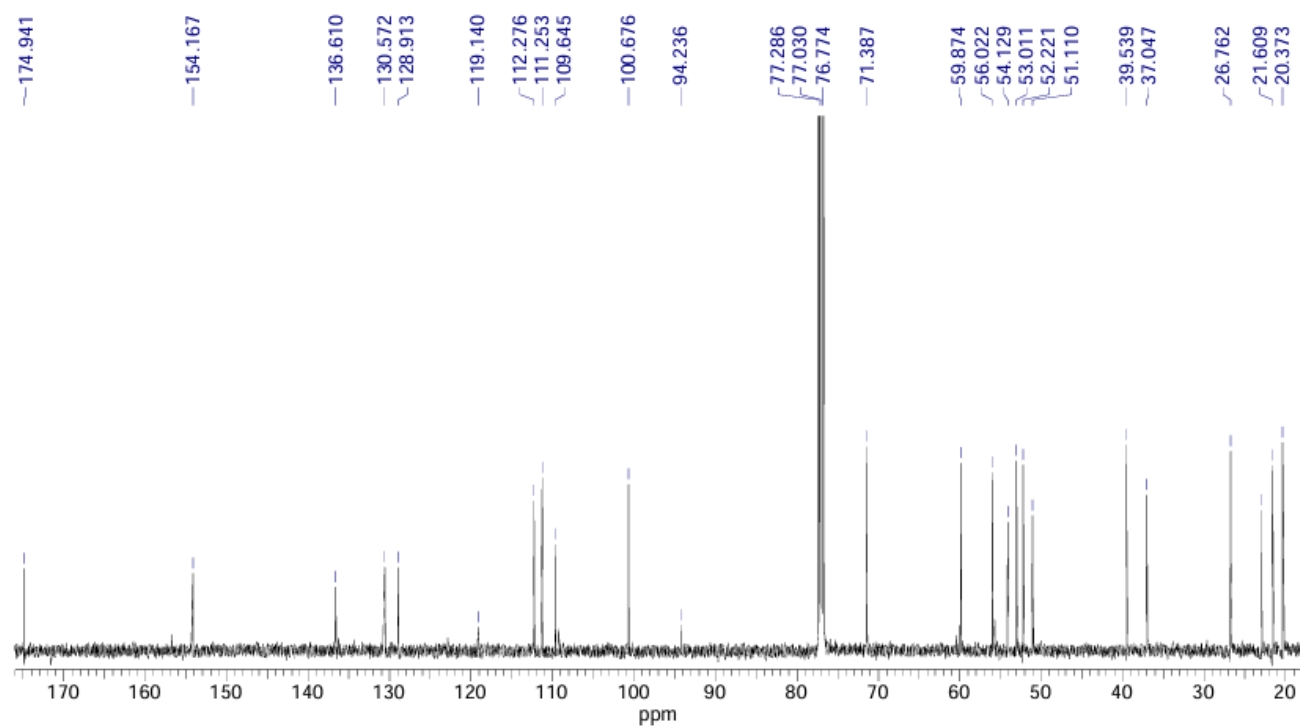


**Figura 9.** Espectro de Masa de Voacristina

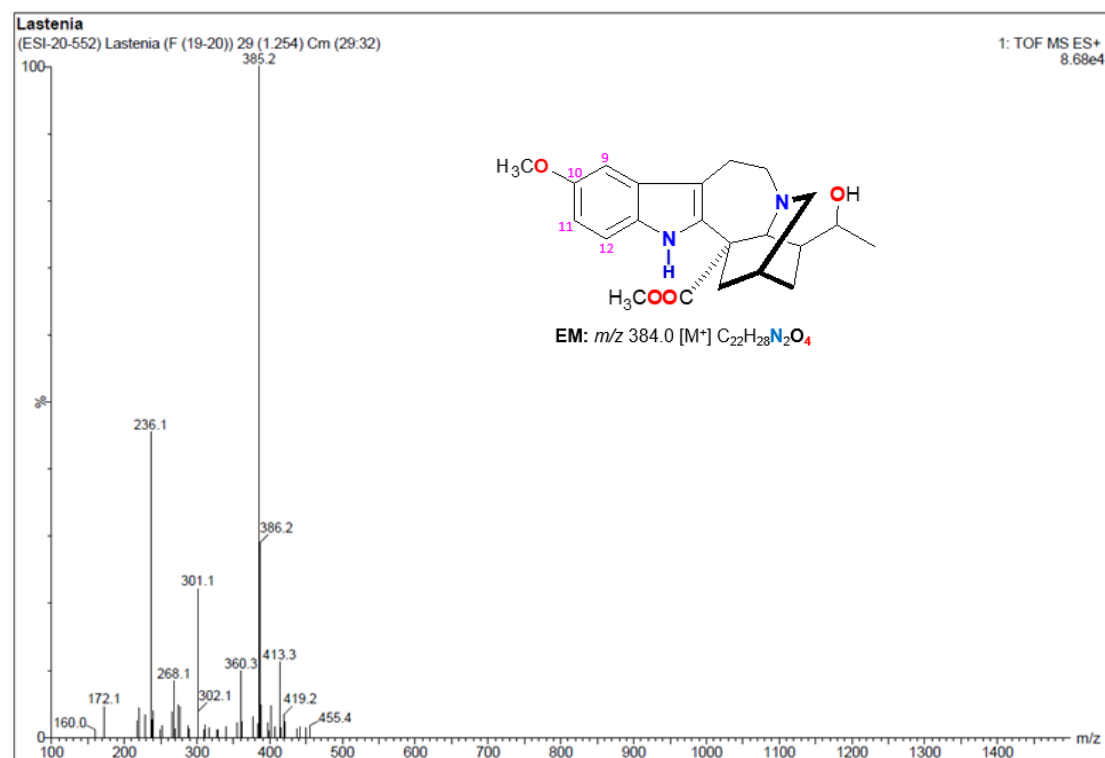
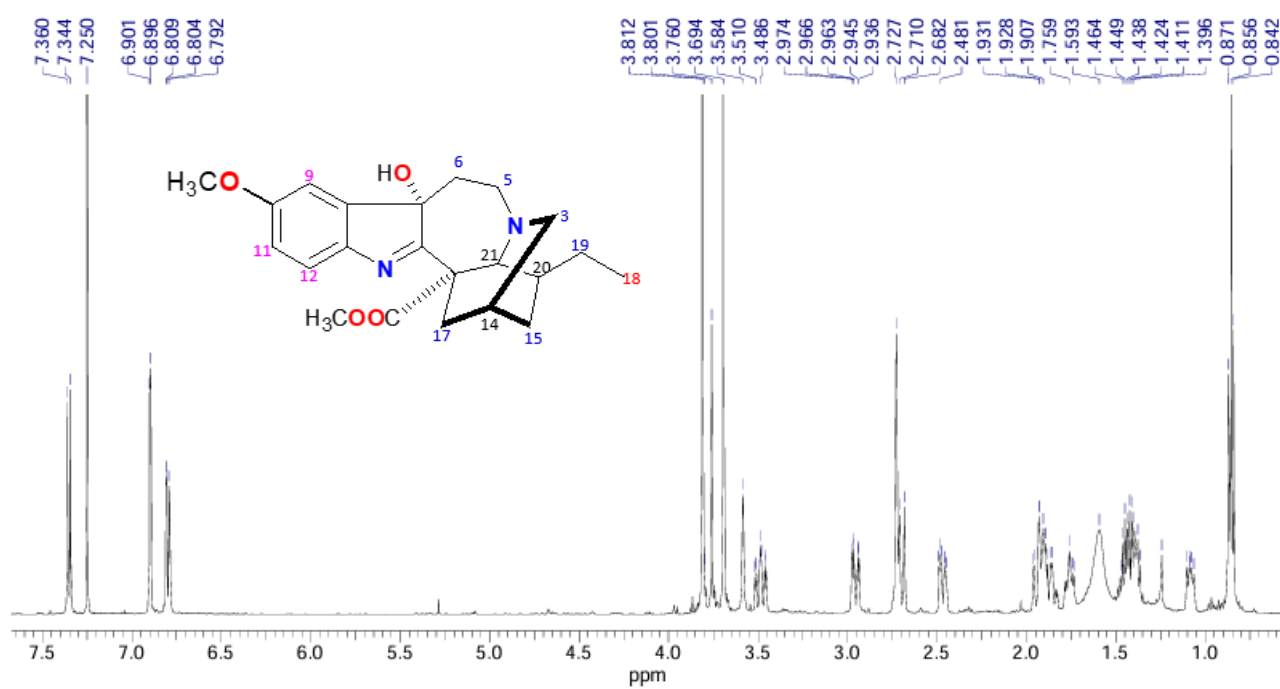


**Figura 10.** Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de 1 H de Voacangina Hidroxiindolenina



**INSTITUCION CIENTIFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO  
CODIGO DE AUTORTIZACION AUT-ICND-2017-005**

## CONSTANCIA

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana

### HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica presentado por **ELVIS CRISTIAN INSAPILLO FATAMA**, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, pertenece a la tesis titulado: "IDENTIFICACION DE ALCALOIDES POR MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS Y ESPECTROSCÓPICA AISLADOS DE LA RAIZ DE *Tabernaemontana markgrafiana* J.F. Macbr. UCHU SANANGO, RECOLECTADOS EN MAZAN, 2020"; han sido DETERMINADAS en este Centro de Investigación y Enseñanza, Herbarium Amazonense-AMAZ, del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la UNAP-CIRNA-UNAP, como se indica a continuación:

| Código AMAZ | FAMILIA     | ESPECIE                                         | NOMBRE COMUN   |
|-------------|-------------|-------------------------------------------------|----------------|
| 37482A      | APOCYNACEAE | <i>Tabernaemontana markgrafiana</i> J.F. Macbr. | "uchu sanango" |

Se expide la presente constancia al interesado, para los fines que estime conveniente.

Atentamente,

Iquitos, 15 de junio del 2021

  
**Richard J. Huaranca Mostupa**  
Coordinador Herbarium Amazonense

