



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Química e Ingeniería Química
Escuela Profesional de Química

**Aislamiento y elucidación estructural de los alcaloides
de la resina de la *Maquira coriácea* (Karsten) C.C.
Berg**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico

AUTOR

Luís Omar MONSALVE OCMÍN

ASESOR

Dr. Olivio Nino CASTRO MANDUJANO

Lima, Perú

2022



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Monsalve, L. (2022). *Aislamiento y elucidación estructural de los alcaloides de la resina de la Maquira coriácea (Karsten) C.C. Berg*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química, Escuela Profesional de Química]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Luis Omar Monsalve Ocmin
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	47647373
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-2972-4147
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Olivio Nino Castro Mandujano
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	07683880
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-6592-6934
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	José Luis López Gabriel
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08149594
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Juana María Huamán Malla
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	25603015
Miembro del jurado 2	
Datos de investigación	
Línea de investigación	Química e Ing. Química C.0.1.1. Productos Naturales
Grupo de investigación	No Aplica
Agencia de financiamiento	Sin Financiamiento
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado de lima
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Enero 2018-Diciembre 2020
URL de disciplinas OCDE	Química orgánica https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.04.01 Química analítica https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.04.07



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA

Central: 619 7000 anexos 1230 Telefax: 1209
Ciudad Universitaria – Calle Germán Amezaga 375 – Lima 1
“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”

ESCUELA PROFESIONAL DE QUÍMICA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS VIRTUAL

Los suscritos miembros del Jurado nombrados por la Dirección de la Escuela Profesional de Química, bajo la Presidencia del **Quím. José Luis López Gabriel** (Presidente), la **Quím. Juana María Huamán Malla** (Miembro) y el **Dr. Olívio Nino Castro Mandujano** (Asesor), habiendo presentado para tal efecto la **TESIS**, titulada “**Aislamiento y elucidación estructural de los alcaloides de la resina de la *Maquira coriácea* (Karsten) C.C. Berg**” después de **SUSTENTADA Y APROBADA** la **TESIS** elaborado por el Bachiller en Química: **LUÍS OMAR MONSALVE OCMÍN**; para optar el **TÍTULO PROFESIONAL** de **QUÍMICO**, acordaron calificarlo con la **NOTA** de:

Veinte

20

.....
(LETRA)

(NÚMERO)

Ciudad Universitaria, 29 de abril de 2022.

Quím. **JUANA MARÍA HUAMÁN MALLA**
MIEMBRO

Quím. **JOSÉ LUIS LÓPEZ GABRIEL**
PRESIDENTE

Dr. **OLIVIO NINO CASTRO MANDUJANO**
ASESOR



Firmado digitalmente por SANTIAGO
CONTRERAS Julio Cesar FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 10.05.2022 21:49:57 -05:00

Dr. **JULIO CÉSAR SANTIAGO CONTRERAS**
Director de la E.P. de Química

DEDICATORIA

A mis padres, Raúl y Noemi, y a mis queridos abuelos D. Luis Monsalve y Dña. Esperanza Huerta, por enseñarme que lo más preciado es la integridad de una persona, y que nuestras decisiones deben de regirse a ellas; a mis tíos Rolando y Víctor, por su apoyo y consejos; a mi hermano y hermanas por su compañía en todo momento, y a todas las personas que me acompañaron en este parpadeo de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Podría comenzar agradeciendo a todos y todas las personas que me ayudaron en este trabajo, por ello hare una línea de tiempo de agradecimiento:

En primer lugar, a Dios por permitirme vivir hasta este momento y poner en mi camino a mi querida Universidad Nacional Mayor de San Marcos, también estoy completamente agradecido por los profesores que me enseñaron con esa dedicación y que contribuyeron en mi formación profesional.

Haciendo un hincapié en los profesores; agradezco a mi primera asesora de tesis la Mag. Gloria Tomas Chota por su tiempo, apoyo, consejos y la confianza que tuvo en mí, citando alguna de las frases que me decía: “Omar espero que no acabes la tesis cuando me jubile”. Continúo el agradecimiento hacia mi segundo asesor de tesis el Dr. Olivio Nino Castro Mandujano, por el apoyo y motivación que necesitaba.

También tengo que agradecer al Dr. Jesús Rodilla por los análisis FT-IR, RMN de ^1H y ^{13}C , Bidimensional (HSQC, HMBC) y de HPLC-MS, si llega a leer esto, desde aquí un fuerte abrazo.

Al Dr. Julio César Santiago Contreras por prestarme sus instalaciones y su equipo espectroscopia UV-VIS las veces necesarias, también a su ayudante de laboratorio Marlene por su tiempo y experiencia. A la profesora Juana María Huamán Malla; siempre estuvo dispuesta a ayudarme desde muy temprano, incluso cuando ya estaba a punto de irse a su casa, ¡muchas gracias, profesora!

Por último y no por ello menos importantes, a mis compañeros de laboratorio Carlos Benito por las risas y el tiempo que compartimos al empezar la tesis y por confiar en lo que decía.

A mi estimado amigo Leo Dan, actualmente mi socio en los proyectos, y a Sandra Estefanía, gracias por compartir el laboratorio hasta tardes de las noches y por las conversaciones e ideas que compartimos.

Gracias a todos y todas que no fueron mencionados, pero que contribuyeron en mi objetivo hasta el día de hoy.

RESUMEN

El presente estudio de investigación de la resina de la *Maquira coriácea* (Karsten) C.C. Berg se estructura en 3 parte; 1) La descripción de la marcha fitoquímica de los extractos hidroalcohólico, hexano, diclorometano y etanol 2) aislamiento (extracción, separación y purificación), identificación y elucidación estructural de los alcaloides. y 3) cuantificación de los alcaloides totales por el método espectroscópico UV-VIS.

La resina de la *Maquira coriácea* fue recolectada en la localidad de Juancito y la pedrera provincia de Loreto, y se le conoce con el nombre vulgar del árbol del pene o capinuri. Se realizó la marcha fitoquímica a los diferentes extractos (hexano, diclorometano, etanol, y una mezcla hidroalcohólica) observando la presencia de saponinas, flavonoides, taninos y alcaloides en la resina de capinuri.

En la extracción de los alcaloides con mezcla hidroalcohólica se le realizaron extracciones discontinuas con solvente polar, en pH ácido y base. La separación y obtención de los alcaloides fueron mediante cromatografía de capa fina (CCF), preparativa (CP) y cromatografía en columna (CC) .

Las extracciones discontinuas se codificaron en “L”, “O”, “M”, de los cuales el de mejor resultado para alcaloides fue el extracto “L” de pH ácido, del cual se obtuvo 2 fracciones con factores de retención $Rf_1= 0.97$ y $Rf_2= 0.86$.

En el espectro UV-VIS de la fracción $Rf_1= 0.97$ presentan máximos de absorción de 230.5 nm y 260 nm con una intensa fluorescencia azul a la luz UV en onda larga, estas longitudes son reportadas para un alcaloide tipo pirrol-3-carbámid.

La espectroscopía infrarroja (IR) de la fracción $Rf_1= 0.97$ nos indica un porcentaje de similitud del 88% a la tintura de valeriana, cabe indicar que la composición química de la tintura

de valeriana contiene alcaloide de estructura tipo pirrol, los grupos funcionales que conforman la estructura son aromáticos, alcoholes, cetonas, metilos, metilenos, metino y aminas. Los datos reportados en espectroscopia de RMN de protón (^1H -RMN) y de carbono 13 (^{13}C -RMN) registran señales muy cercanas a los reportados para los alcaloides del tipo pirrol.

En la espectroscopia ultravioleta para la fracción $R_{f2}= 0.86$ presentan bandas máximas de absorción entre 225 y 280 nm y un mínimo de 250 y 260 nm, longitudes reportadas para las bencilisoquinoleinas y bis- bencilisoquinoleinas. La espectroscopía infrarroja (IR) presenta grupos funcionales: aromáticos, aminas, metilenos, metinos, metilos, alcoholes, y éter.

En las técnicas espectroscópicas RMN- ^1H y ^{13}C , HSQC, HMBC y HRMS-Q de la fracción $R_{f2}= 0.86$ nos permitió confirmar nuestros valores con los reportados para los alcaloides tipo bis- bencilisoquinoleinas, identificando un alcaloide con estructura base de la taligrisina con un puente tipo éter y de enlace mono. La cuantificación de los alcaloides por el método espectrofotométrico de verde bromocresol reporto 175 mgAtropina (AT)/100 g de resina de *Maquira coriácea*.

Palabras claves: *Maquira coriácea*, alcaloides totales, espectroscopía, alcaloide, bencilisoquinoleinas y bis-bencilisoquinoleinas, pirrol.

ABSTRACT

The present research study of the resin of the *Maquira coriacea* (Karsten) C.C. Berg is structured in 3 parts; 1) The description of the phytochemical progress of the hydroalcoholic extracts, hexane, dichloromethane and ethanol 2) isolation (extraction, separation and purification), identification and structural elucidation of the alkaloids. and 3) quantification of the total alkaloids by the UV-VIS spectroscopic method.

The resin of the coriaceous *Maquira* was collected in the town of Juancito and the Pedrera province of Loreto, and is known by the common name of the penis tree or capinuri. The phytochemical run was carried out on the different extracts (hexane, dichloromethane, ethanol, and a hydroalcoholic mixture) observing the presence of saponins, flavonoids, tannins and alkaloids in the capinuri resin.

In the extraction of the alkaloids with a hydroalcoholic mixture, discontinuous extractions were carried out with polar solvent, in acidic and base pH. The separation and obtaining of the alkaloids were by means of thin layer chromatography (TLC), preparative (CP) and column chromatography (CC).

The discontinuous extractions were coded in "L", "O", "M", of which the best result for alkaloids was the extract "L" with acidic pH, from which 2 fractions with retention factors $Rf_1 = 0.97$ were obtained and $Rf_2 = 0.86$.

In the UV-VIS spectrum of the $Rf_1 = 0.97$ fraction, they present absorption maxima of 230.5 nm and 260 nm with an intense blue fluorescence in long-wave UV light, these lengths are reported for a pyrrole-3-carbamide alkaloid.

Infrared spectroscopy (IR) of the fraction $Rf1 = 0.97$ indicates a similarity percentage of 88% to the valerian tincture, it should be noted that the chemical composition of the valerian tincture contains alkaloid of a pyrrole-type structure, the functional groups that make up the structure is aromatics, alcohols, ketones, methyl, methylenes, methine and amines. The data reported in proton (1H -NMR) and carbon 13 (^{13}C -NMR) NMR spectroscopy register signals very close to those reported for alkaloids of the pyrrole type.

In ultraviolet spectroscopy, for the fraction $Rf2 = 0.86$, they show maximum absorption bands between 225 and 280 nm and a minimum of 250 and 260 nm, lengths reported for benzyloquinolines and bis-benzyloquinolines. Infrared (IR) spectroscopy shows functional groups: aromatics, amines, methylenes, methines, methyl, alcohols, and ether.

In the 1H and ^{13}C NMR spectroscopic techniques, HSQC, HMBC and HRMS-Q of the fraction $Rf2 = 0.86$ allowed us to confirm our values with those reported for bis-benzyloquinoline alkaloids, identifying an alkaloid with a taligrisine base structure with a ether bridge and mono bond. The quantification of alkaloids by the spectrophotometric method of green bromocresol reported 175 mg Atropine (AT) / 100 g of coriaceous Maquira resin.

Keywords: Maquira coriacea, total alkaloids, spectroscopy, alkaloid, benzyloquinolines and bis-benzyloquinolines, pyrrole.

ÍNDICE GENERAL

Índice de figuras.....	xiii
Índice de Tablas	xv
Índice de Anexos.....	xvi
Lista de abreviaturas	xviii
CAPTULO I: INTRODUCCIÓN	1
1.1 Planteamiento del problema.....	2
1.1.1 Identificación del problema	2
1.1.2 Justificación	2
1.2 Objetivos	2
1.2.1 Objetivo General	2
1.2.2 Objetivo Especifico	2
1.3 Hipótesis	3
1.4 Contribución e Impacto	3
1.5 Antecedentes	3
CAPÍTULO II: PARTE TEÓRICA.....	6
2.1 El género <i>Maquira</i>	6
2.1.1 Descripción botánica	6
2.1.2 Usos y aplicaciones etnomedicinales de la <i>M. coriacea</i>.....	8
2.1.3 ls secundarios.....	8
2.1.4 Alcaloides	8
2.1.5 Funciones de los alcaloides en las plantas	11
2.1.6 Biosíntesis de alcaloides	11
2.1.7 Alcaloides derivados de la Ornitina	12
2.1.8 Alcaloides derivados de la Fenilalanina y Tirosina	12
2.1.9 Biosíntesis de alcaloides bencilisoquinólico.....	13
2.1.10 Biogénesis de Benciltetrahydroisoquinoleinas (BTHIQ) y las Bisbencilterahydroisoquinoleinas (BBTHIQ).....	14
2.1.11 Bis-bencilisoquinoleina.....	15

2.1.12	Alcaloides derivados del Triptofano	16
2.1.13	Estudio fitoquímico.....	17
2.1.13.1	Extracción de alcaloides.....	18
2.1.14	Reacciones de reconocimiento de alcaloides.....	18
2.2	Aislamiento de alcaloides.....	19
2.2.1	Métodos fisicoquímicos no cromatográficos.	19
2.2.2	Métodos cromatográficos	19
2.2.2.1	Cromatografía en capa fina.....	19
2.2.2.2	Cromatografía en columna.....	20
2.2.2.3	Cromatografía preparativa.....	21
2.3	Análisis instrumental para la identificación de los alcaloides.....	21.
2.3.1	Espectrofotometría ultravioleta visible (UV-VIS).....	21
2.3.2	Espectrofotometría infrarroja (IR).....	22
2.3.3	Espectrofotometría de resonancia magnética nuclear (RMN).....	22
2.3.4	Espectroscopia de RMN Bidimensional.....	23
2.3.4.1	HSQC–Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy.....	23
2.3.4.2	HMBC-Heteronuclear Múltiple Bond Correlation.....	23
2.3.4.3	Espectrometría de masas de Alta Resolución híbrido con analizadores cuadrupolo-tiempo.....	23
CAPITULO III: METODOLOGÍA		25
<u>3.1</u>	Materiales, Reactivos y equipos	25
<u>3.1.1</u>	Materiales	25
<u>3.1.2</u>	Reactivos	25
<u>3.1.3</u>	Equipos	25
<u>3.2</u>	Análisis preliminar.....	26
<u>3.2.1</u>	Muestra y Recolección.....	25
<u>3.2.2</u>	Pruebas de solubilidad	25
<u>3.2.3</u>	Obtención de extractos para la Marcha Fitoquímica.....	26
<u>3.3</u>	Marcha fitoquímica.....	26
<u>3.4</u>	Aislamiento de alcaloides.....	26
<u>3.5</u>	Análisis y elucidación estructural espectroscópicos de los metabolitos aislados.....	28

3.5.1	Espectro Ultravioleta (UV-VIS).....	29
3.5.2	Espectro Infrarrojo (IR).....	28
3.5.3	Espectrofotometría de Resonancia Magnética Nuclear (RMN).....	28
3.5.4	Espectrometría de masas de Alta Resolución híbrido con analizadores cuadrupolo-tiempo.....	29
3.6	Cuantificación de los alcaloides totales: Método espectrofotométrico con bromocresol verde.....	29
3.6.1	Preparación de la curva de calibración utilizando como patrón atropina.....	29
3.6.2	Extracción hidroalcohólica (EH) en frío de los alcaloides totales.....	30
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....		31
4.1	Recolección y Muestreo.....	31
4.2	Taxonomía y características botánicas <i>Maquira coriácea</i>	32
4.2.1	Descripción botánica.....	33
4.3	Prueba de solubilidad.....	33
4.4	Marcha fitoquímica.....	33
4.4.1	Resultados de la obtención del extracto "L".....	38
4.4.2	Cromatografía preparativa.....	39
4.5	Elucidación estructural de los compuestos obtenidos Rf ₁ y Rf ₂	40
4.5.1	Elucidación estructural del compuesto Rf ₁ =0.97.....	40
4.5.1.1	Espectroscopía UV-VIS.....	40
4.5.1.2	Espectroscopía infrarroja de la muestra Rf ₁	41
4.5.1.3	Análisis instrumental de espectroscopía de RMN de protón (¹ H-RMN) y de carbono 13 (¹³ C-RMN).....	45
a.	Espectroscopía de RMN de protón (¹ H-RMN).....	45
b.	Espectroscopía de RMN de carbono 13 (¹³ C-RMN).....	46
4.5.2	Elucidación estructural del compuesto Rf ₂ =0.86.....	46
4.5.2.1	Espectroscopía UV-VIS.....	46
4.5.2.2	Espectroscopía infrarroja.....	47
4.5.2.3	Análisis instrumental de espectroscopía de RMN de protón (¹ H-RMN) y de carbono 13 (¹³ C-RMN) y bidimensional (HSQC, HMBC).....	49
a.	Espectroscopía de RMN de protón (¹ H-RMN).....	49
b.	Espectroscopía de RMN de carbono 13.....	50
c.	Espectro bidimensional HSQC (Heteronuclear single quantum correlation spectroscopy) y HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation).....	54
d.	Espectrometría de masas de alta resolución (HRMS).....	56

4.5.3 Cuantificación de alcaloides totales.....	58
CAPITULO V: CONCLUSIONES.....	60
5.1 Conclusiones	60
5.2 Recomendaciones.....	61
CAPITULO VI: BIBLIOGRAFÍA.....	62
CAPITULO VII: ANEXOS.....	66

Índice de figuras

Figura 1. Árbol de la <i>Maquira coriácea</i>	7
Figura 2. Resina de la <i>Maquira coriácea</i>	7
Figura 3. Rama de la <i>Maquira coriácea</i>	7
Figura 4. Hojas de la <i>Maquira coriácea</i>	7
Figura 5. Flor de la <i>Maquira coriácea</i>	7
Figura 6. Alcaloides derivados de aminoácidos.....	12
Figura 7. Biogénesis alcaloides isoquinoleicos simples a partir de la dopamina.....	13
Figura 8. Diversidad estructural de alcaloides bencilisoquinolinicos.....	14
Figura 9. Posiciones oxigenadas.....	14
Figura 10. Biosíntesis de la reticulina.....	15
Figura 11. Taligrisina.....	15
Figura 12. Limacina.....	15
Figura 13. Alcaloides precursores del triptófano.....	16
Figura 14. Triptaminas simples por reacciones de descarboxilación, metilación y oxidación del triptófano.....	16
Figura 15. Triptaminas complejas no isoprénicas, biosíntesis de la evodianina y rutaecarpina.....	17
Figura 16. Triptaminas complejas isoprénicas, ergometrina.....	17
Figura 17. Solubilidad de alcaloides en solvente apolar y pH ácido.....	18
Figura 18. Representación de una cromatografía de capa fina y la separación de metabolitos de acuerdo con su polaridad.....	20
Figura 19. Representación de una cromatografía de columna.....	20
Figura 20. Representación del proceso de lectura de un ultravioleta visible (UV-VIS) columna.....	21
Figura 21. Representación del proceso de lectura de un espectro IR.....	22
Figura 22. Representación de un espectro HSQC.....	23
Figura 23. Fuente: Google Maps Localización del punto de muestro.....	31
Figura 24. Franco ámbar de recolección de la resina.....	31
Figura 25. Precipitados característicos de saponinas por reacción de Salkowski.....	34
Figura 26. Precipitados característicos de taninos.....	34
Figura 27. Precipitados característicos de flavonoides.....	35
Figura 28. Precipitados característicos de alcaloides.....	35
Figura 29. Reacción de Dragendorff.....	36
Figura 30. Reacción de Mayer.....	36
Figura 31. Observación de los tres frascos con fluorescencia azul bajo un lámpara UV.....	38
Figura 32. Observación de la fluorescencia y los factores de retención bajo una lámpara UV.....	39
Figura 33. Gráfica UV del compuesto Rf ₁	40
Figura 34. Espectro UV del pirrol-3carbamida.....	40
Figura 35. Espectro IR del compuesto Rf ₁	41
Figura 36. Espectro IR de la tintura de valeriana.....	44
Figura 37. Alcaloides de la tintura de valeriana.....	44

Figura 38. 2-acetilpirrol alcaloide encontrado en la tintura de valeriana	45
Figura 39. Espectro UV-VIS experimental de la muestra $Rf_2=0.86$	47
Figura 40. Espectro UV-Vis teórico de la Tetrahidroprotoberberina y benciltetrahidroisoquinoleina	47
Figura 41. Espectro IR del compuesto $Rf_2=0.86$	47
Figura 42. Espectro RMN 1H del compuesto $Rf_2=0.86$	49
Figura 43. Antioquina.....	50
Figura 44. Taligrisina.....	50
Figura 45. Espectro RMN ^{13}C , DEPT-135.....	51
Figura 46. Espectro ^{13}C , DEPT-90.....	51
Figura 47. Espectro RMN- ^{13}C del compuesto $Rf_2=0.86$	53
Figura 48. Espectro HSQC.....	55
Figura 49. Espectro HMBC.....	55
Figura 50. Fraccionamiento obtenido para la molécula propuesta.....	57
Figura 51. Estructura química propuesta para el compuesto $Rf_1=0.86$	57
Figura 52. Curva patrón de la atropina a 470nm.....	58

Índice de Tablas

Tabla 1. Cuadro comparativo de las especies forestales de la Familia morácea y su género	10
Tabla 2. Identificación taxonómica	32
Tabla 3. Resultados de la solubilidad de la resina de capinuri	33
Tabla 4. Resultados del tamizaje fitoquímico con diferentes solventes	37
Tabla 5. Resultados de la marcha fitoquímica de la resina de capinuri	37
Tabla 6. Resultados de reacciones de identificación para las muestras obtenidas	39
Tabla 7. Valores de Rf de las fracciones del extracto “L”	40
Tabla 8. Bandas de absorción y estructuras orgánicas del espectro IR de la muestra Rf ₁	43
Tabla 9. Cuadro comparativo de datos experimentales y teóricos de ¹ H-RMN para Rf ₁	45
Tabla 10. Cuadro comparativo de datos teóricos y experimentales de ¹³ C-RMN para Rf ₁	46
Tabla 11. Bandas de absorción y estructuras orgánicas del espectro IR de la muestra Rf ₂	48
Tabla 12. Cuadro comparativo de datos teóricos, experimentales y simulados en MestReNova, para 1H-RMN (400 MHz, metanol-d4).....	50
Tabla 13. Datos de RMN- ¹³ C del compuesto Rf ₂ =0.86: Comparación entre los resultados experimentales y datos simulados en el programa de MestReNova de compuestos bis-bencilisoquinolinico	53
Tabla 14. Datos de RMN bidimensional HSQC y HMQC	56
Tabla 15. Datos comparativos de métodos de extracción para la cuantificación de alcaloides totales	59

Índice de Anexos

Anexo 1. Diagrama de flujo de la obtención del extracto y de la caracterización química de los alcaloides	66
Anexo 2. Fotografías de las fracciones obtenidas y vistas en la lampara UV.....	67
Anexo 3. Espectro de RMN de protón (^1H -RMN) del alcaloide Rf ₁	68
Anexo 4. Espectro de RMN de carbono 13 (^{13}C -RMN) del alcaloide Rf ₁	68

Lista de abreviaturas

Abs	Absorbancia
BBTHIQ	Bis-benciltetrahidroisoquinoleina
BCG	Verde de bromocresol
BTHIQ	Benciltetrahidroisoquinoleina
CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía de capa fina
CCF	Cromatografía en capa fina
CENSI	Centro Nacional de Salud Intercultural
CP	Cromatografía preparativa
EH	Extracción hidroalcohólica
ESI	Ionización por electroespray
FT-IR	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier
g	Gramo
HMBC	Heteronuclear Múltiple Bond Correlation
HRMS-Q	Espectrometría de Masas de Alta Resolución híbrido cuadrupolo-tiempo
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy
M.Coriácea	Maquira coriácea
mg	Miligramo
mg/L	Miligramos por litro
ml	Mililitro
mm	Nanómetros
cm ⁻¹	Ciclos por centímetro
N	Normalidad

pH	Potencial de Hidrógeno
Rf	Rate factor
FM	Fase móvil
RMN de ^{13}C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono
RMN de ^1H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
UV	Ultravioleta
UV-VIS	Ultravioleta-visible

CAPTULO I: INTRODUCCIÓN

La especie arbórea *Maquira coriácea* (Karsten) C.C. Berg, es también conocida en Perú como capinuri (Gentry, 1993), en otro país como Brasil también se le conoce como capinuri o moritanga (Chichignoud et al., 1990). El Perú es uno de los países que posee el 10% del total de la flora registrada a nivel mundial, es rico en recursos naturales, por ello que debe ser de gran interés llevar a cabo estudios sobre nuestra biodiversidad y de esta manera aprovechar los recursos e incentivar los estudios de los productos naturales.

La especie *M. coriácea* se encuentra distribuida en zonas neotropicales presentes principalmente en la parte norte de América del Sur y es común encontrarlas en las cuencas amazónicas, Orinoco y la cuenca alta del río Paraguay. El hábitat de *M. coriácea* en el Perú son los bosques de la llanura aluvial de la cuenca del Amazonas. (Berg, 1972; Berg y Rosselli, 1996). En Perú se encuentran en los departamentos de Loreto y Madre de Dios. La *M. coriácea* posee un látex de color crema que puede encontrar en la madera, corteza y hojas. (H.Karst.) C.C.Berg

En los usos tradicionales se da para el tratamiento de heridas internas, la impotencia (viagra natural) y la frigidez; el látex es antiinflamatorio en luxaciones, es cáustico y tóxico en grandes cantidades (Gustav Nebel, 2000) y para tratamiento de las hemorroides, estas propiedades vienen siendo aprovechados por los moradores de la quebrada de Maquilla, de los centros poblados de Juancito y la pedrera en el Departamento de Loreto.

Actualmente el estudio químico de la resina en la especie *maquira coriácea* no sé tiene información por ello el gran interés del estudio y de encontrar nuevos compuestos químicos, se pretende también brindar un respaldo científico base a las nuevas investigaciones y en las posibles demostraciones de su potencial farmacológico y de esta manera contribuir con la salud pública de nuestro país.

1.1 Planteamiento del problema

1.1.1 Identificación del problema

La especie arbórea *Maquira coriácea* tiene una popularidad en la medicina tradicional, esta especie contiene una resina que posee compuestos químicos que posiblemente le brindan propiedades farmacológicas, así que la identificación y elucidación de estos compuestos nos podrían ayudar a evidenciar estas propiedades.

1.1.2 Justificación

Al no existir investigaciones de los compuestos químicos de la resina, la motivación es dar a conocer la composición química de esta especie *Maquira coriácea*.

También aportar con las investigaciones de la UNMSM, ya que esta especie en conjunto con otras fue dada por el gobierno regional de Loreto a la UNMSM para sus futuras investigaciones [20]

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Aislar y elucidar su estructura química de los alcaloides de la resina de la *Maquira coriácea*.

1.2.2 Objetivo Especifico

- ✓ Realizar la marcha fitoquímica e identificar cualitativamente la existencia de metabolitos secundarios.
- ✓ Realizar el aislamiento (extracción, separación y purificación).
- ✓ Realizar la identificación y elucidación estructural de los alcaloides por análisis de espectroscopia UV-VIS, FT-IR, RMN de ^1H y ^{13}C , Bidimensional (HSQC, HMBC) y espectrometría de Masas de Alta Resolución híbrido cuadrupolo-tiempo.

- ✓ Determinar cuantitativamente la cantidad de alcaloides totales presentes en la resina de la *Maquira coriácea* por el método espectrofotométrico UV visible

1.3 Hipótesis

La resina de la especie *Maquira cariácea* presentara metabolitos secundarios como alcaloides, y estos compuestos serán posibles aislar y elucidar sus estructuras químicas por métodos espectroscópicos UV-VIS, FT-IR, RMN de ^1H Y ^{13}C , Bidimensional (CHSQC, HMBC) y Espectrometría de Masas de Alta Resolución híbrido cuadrupolo-tiempo.

1.4 Contribución e Impacto

Con el presente trabajo se pretende brindar un respaldo científico en la información de esta especie, para las nuevas investigaciones y en sus posibles demostraciones del potencial farmacológico de esta manera contribuir una alternativa en la salud. También contribuir a que se produzca una menor tala de esta especie, ya que solo es aprovechada como especie maderable.

1.5 Antecedentes

En el Perú las plantas medicinales han sido utilizadas para el tratamiento de enfermedades y este conocimiento ha sido transmitido por las generaciones de nuestros pueblos indígenas. Es por ello el estudio de estas plantas medicinales con la necesidad de defender y proteger esos saberes tradicionales. (CENSI)

Sabemos que las plantas medicinales se han utilizado desde tiempos antiguos, otorgándoles nombres populares, un ejemplo es la *Maquira cariocea*, conocido como el árbol del pene o capinuri en el interior de nuestra amazonia. Los trabajos previos de esta especie arbórea de la familia *Moraceae* y del género *Maquira* hacen referencia a sus descripciones botánicas, etnofarmacología, actividad biológica e investigación clínica. Entre sus usos tradicionales se encuentra el tratamiento de heridas internas, la impotencia (viagra natural) y la

frigidez; el látex es antiinflamatorio en luxaciones, es cáustico y tóxico en grandes cantidades.
(Wagner-Mireira C.2011)

Algunos de estos usos encontrados se encuentra en los dardos venenosos los cuales fueron usados por los indios de América del Sur , estos dardos contenían glucósidos cardiotónico como la estrofantidina extraída de las especies *Maquira* .Las estructuras de los glucósidos aislados se han establecido como β -d-glucometilosido-d-alósido y β -d-digitoxosido-d-alósido, el primero de ellos es un glucósido cristalino componente importante de pakurin, veneno de los indios Chocó (Shrestha, T. et al. 1992)

Los indios Chacobos ubicados en Bolivia, utilizaban extractos de plantas para el tratamiento de la malaria, en las cuales se encontró 2 especies la *Geissospermum laeve* y *Maquira coriacea* con propiedades de antipaludismo el cual reportan una buena actividad de esta forma se ha corroborado el uso tradicional por esta comunidad nativa de Bolivia. (Muñoz V. et al. 2000)

Mitaine-Offer A C, et al. 2001, nos menciona que en la corteza de la especie *Maquira coriácea* se encuentran 14 triterpenoides y fitoesteroles, así como también los datos espectrales de un cardenólido, k-strophanthin-beta (1).

Otras investigaciones con respecto a sus metabolitos secundarios de la familia *Moraceae* pero del género *Ficus* presentes en el látex, se hallaron compuestos α y β amyrina (triterpeonoides derivados del escualeno) (Jorge A. et al.2013), como también presencias de flavonoides como la Rutina, luteolina y hiperosido, quercetina, apigenina, psolareno y bergapteno (Katic G. 2015)

En cuanto a las investigaciones en alcaloides identificados en extractos de hojas son: la columbamina, laudanosolina, metilcoridaldina, salsolina, reticulina (bencilisoquinoleinas), calicantidina, akuammidine, anabasina, tomatidina, derivado de acridina, sophocarpina, neblinina, harmina, obscurinervinediol, ergolina, elipticina, N-óxido indicativo, matridina,

scoulerina, hidroxí morfina, aspidospermidina, nicodicodina, adenocarpina, licocernuina, isoclaurina, dasicarpidan, retronecina, clemastina. Información útil para otras posibles aplicaciones farmacéuticas tales como cicatrizante, analgésica y antiinflamatorio; ya que son actividades altamente relacionadas. En el extracto de corteza, los alcaloides: p-bromo atropina, columbamina, laudanosolina, crinamidina, oscurinervinediol, matridina, solasodina, nicodicodina, ibogamina, lutidina, cinchophen, ajamalicina, dasicarpidol; así como también alcaloides Piridínico encontrados en la familia Moraceae (Javier F. 2019)

El método seguido para la extracción y fraccionamiento de los alcaloides se basa en el establecido previamente para este tipo de compuestos (Codina et al., 1993), la cuantificación de alcaloides totales el método basado en la reacción con verde de bromocresol (BCG) (F Shamsa, et al, 2008).

Los trabajos previos se han caracterizado por el estudio de las cortezas y hojas, de la familia Moraceae, pero no de la especie *Maquira coriacea* ni de la resina (látex), esto hace que genere interés del estudio de la resina y las posibilidades de encontrar nuevos compuestos que sean de interés de las nuevas investigaciones o de la industria farmacológica, de esta manera sustentando el habla popular de nuestros pueblos amazónicos.

CAPITULO II: PARTE TEÓRICA

2.1. El género *Maquira*

Las especies de genero *Maquira* se encuentran principalmente en el norte de Sudamérica y se conoce cuatro de estas especies presentes en la cuenca de las amazonas. Su hábitat son los bosques de la llanura aluvial inundable de la cuenca del Amazonas, Orinoco y el alto río Paraguay, otras especies su hábitat son en los bosques no inundables (Berg, 1972; Berg y Rosselli, 1996).

En Perú a esta especie se le conoce como capinurí (Gentry, 1993) y en Brasil como muiratinga o capinurí (Chichignoud, et al., 1990).

El capinuri es un árbol que puede alcanzar alturas mayores a los 45 metros y posee grandes aletas, tronco cilíndrico, corteza lisa, ramas autodesprendibles y conspicuas. La resina, que es de color crema, está presente en la madera, corteza y hojas. Es una especie dioica con flores masculinas y femeninas, frutos esféricos y de color amarillento cuando están maduros.

2.1.1 Descripción botánica

- ✓ Reino: Plantae
- ✓ División: Magnoliophyta
- ✓ Clase: Magnoliopsida
- ✓ Subclase: Hamamelidae
- ✓ Orden: Urticales
- ✓ Familia: Morácea
- ✓ Género: *Maquira*
- ✓ Especie: *Maquira coriácea*
- ✓ N. vulgar: “capinurí”, “árbol del pene”



Figura 1. Árbol de la *Maquira coriácea*
Fuente: arboles medicinales



Figura 2. Resina de la *Maquira coriácea*



Figura 3. Rama de la *Maquira coriácea*



Figura 4. Hojas de la *Maquira coriácea*



Figura 5.
Flor de la *Maquira coriácea*

2.1.2 Usos y aplicaciones etnomedicinales de la *M. coriacea*

El Látex recién extraído del árbol se utiliza como un antiinflamatorio para las luxaciones y las hernias, el consumo o las dosis de esta resina es mediante una cucharada diluida con agua tibia y se toma por las mañanas para el tratamiento postparto usadas por pobladores de la amazonia, también son usadas disminuir los descensos vaginales (M. Campanera-W. Mass et al., 2011).

2.1.3 Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios como los alcaloides son compuestos químicos sintetizados a partir del metabolismo primario, como los aminoácidos, esenciales en la función metabólica de las plantas como en su crecimiento y supervivencia.

La diferencia en los metabolitos secundarios (como fenoles, terpenos, alcaloides), no son necesario para los metabolismos primarios de la planta, pero si participan en procesos químicos únicos de la planta, generalmente estos metabolitos no son iguales en un gran número de plantas y se encuentra limitada en el reino vegetal pudiendo ser una ventaja para las plantas en la supervivencia con su entorno.

2.1.4 Alcaloides

Los alcaloides son metabolitos secundarios, que contienen anillos cíclicos nitrogenados, estos pueden derivar de microorganismos, organismos marinos y plantas (Rathbone D, 2002), generalmente son sintetizados por aminoácidos precursores y poseen una hidrosolubilidad a pH ácido, ya que algunas veces se encuentran en forma insoluble y formando una sal para la solubilidad, y en solventes orgánicos cuando están en forma base (Mitaine-Offer et al., 2002). Estos compuestos generalmente derivan de aminoácidos como tirosina, lisina, triptófano, fenilalanina, arginina y ornitina.

Muchos de ellos se han utilizado como estimulantes, narcóticos como la morfina y la codeína, para tratamiento cancerígenos, arrítmicos y antibióticos como la sanguinarina (Dewick, 1997). Los alcaloides presentan una elevada diversidad estructural y diversos orígenes de acuerdo con su ruta de biogénesis (Arcila-Valencia et al., 2006). En la historia los alcaloides han influenciado en todo el mundo.

Tabla 1. Cuadro comparativo de las especies forestales de la familia morácea y sus géneros

Nombre científico	Nombre común	Género	Aminoácido precursor	Alcaloides derivados	Alcaloides	Uso medicinal
<i>Ficus citrifolia</i> mil	Higuerón	Ficus	-	-	Contienen alcaloides	Antiinflamatorio, antibacteriano, desintoxicante de la sangre
<i>Ficus benamina</i>	Benjamín, higuera de java	Ficus	-	-	Reticulina, bencilisoquinoleina, etc.	Cicatrizante, analgésica y antiinflamatorio
<i>Maquira coriacea</i>	Muiratinga, capinurí	<i>Maquira</i>	Triptófano y tirosina	Isoquinoleinas, Indólicos, quinoleinas	-	Antiinflamatorio en luxaciones y hernias
<i>Brosimum utile</i> <i>ovatifolium</i>	Leche caspi, panguana, loro micuna, sacha tulpay	Brosimum	-	-	Contienen alcaloides Bufotenina (Indólico)	Homeopático y gastritis
<i>Ficus insipida</i> willd. var. <i>insipida</i>	Doctor ojé, lla, higuerón, hojé huitó	Ficus	-	-	Contienen alcaloides	Hematopoyético, depurativo de la sangre y fiebre.
<i>Brosimum alicastrum</i> Swartz	Manchinga, Congona.	Brosimum	Triptófano	Isoquinoleinas, Indólicos, quinoleinas	Contienen alcaloides	Látex medicinal
<i>Brosimum utile</i> Pitt	Panguana.	Brosimum	-	-	Contienen alcaloides	Látex medicinal, propiedades antioxidantes

2.1.5 Funciones de los alcaloides en las plantas

Los alcaloides tienen la función de regular el crecimiento en las plantas, se ha demostrado que los alcaloides derivados de la putrescina le deben su incremento durante la germinación a los suelos deficientes de potasio (Evans, 2000) (Robinson, 1983).

Otras de sus funciones son; actuar como defensas naturales contra animales y hongos, y suelen producir efectos fisiológicos en los animales. La mayoría de las plantas medicinales, tóxicas y alucinógenas deben sus efectos a la actividad biológica de los alcaloides. Según la dosis y la duración del tratamiento, pueden usarse como analgésicos, anestésicos, curativos, o psicotrópicos; así como también, llegar a producir la muerte (al emplearse como pesticidas, insecticidas o armas criminales), y/o causar adicciones leves y graves (Azcón y Talón, 2000).

2.1.6 Biosíntesis de alcaloides

Existe una gran diversidad estructural de estos metabolitos secundarios, es por ello por lo que solo se mostrara de forma más detallada la biosíntesis de los alcaloides relacionados con los aminoácidos que posee esta familia y sus diversos géneros de la especie forestal. De acuerdo con su origen biosintético, los aminoácidos precursores son los siguientes:

Aminoácidos precursores

- ✓ La ornitina
- ✓ La lisina

Alcaloides derivados

- ✓ Pirrolidinas, tropánicos, pirrolizidínicos
- ✓ Piperidinas, quinolizidínicos

Alcaloides aromáticos

- | | |
|---|--------------------------|
| ✓ Derivados del ácido nicotínico | ✓ Piridinas |
| ✓ Derivados de la fenilalanina y tirosina | ✓ Isoquinoleinas |
| ✓ Derivados del triptófano | ✓ Indólicos, quinoleinas |
| ✓ Derivados del ácido antranílico | ✓ Quinoleinas |
| ✓ Derivados de la histidina | ✓ Imidazoles |

Alcaloides de origen diverso

- ✓ Alcaloides terpénicos y esteroidales
- ✓ Alcaloides diversos (purinas, macrociclos, etc.)

2.1.7 Alcaloides derivados de la Ornitina.

Los alcaloides derivados de la ornitina se pueden clasificar en pirrolidinas, tropánicos y pirrolizidínicos. Los alcaloides de este grupo que presentan algún interés farmacológico son los alcaloides pirrolizidínicos el cual procedente de dos moléculas de ornitina, los más conocidos son Senecio, Crotalaria y Heliotropium y responsables de hepatotoxicidad, y los alcaloides tropánicos.

2.1.8 Alcaloides derivados de la Fenilalanina y Tirosina

Los alcaloides que derivados de estos aminoácidos y sus productos de descarboxilación, abarcan una cantidad de estructuras alcaideas de las cuales se encuentran las aminas simples o feniletilaminas, isoquinolinas simples y los derivados bencilisoquinoleinas, estos metabolitos secundarios son de gran importancia por poseer propiedades farmacológicas. (Ver figura 6 y 7)

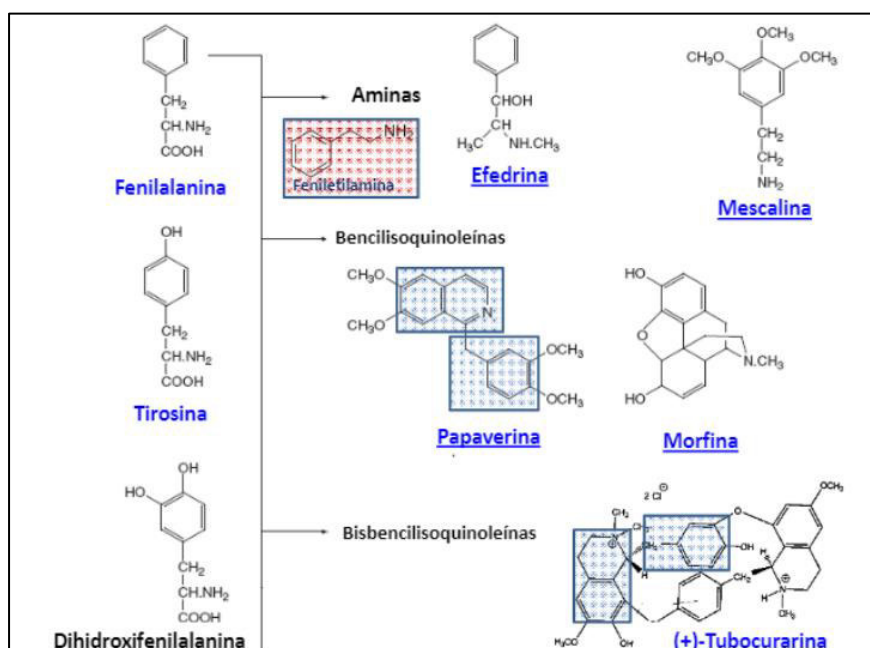


Figura 6. Alcaloides derivados de aminoácidos

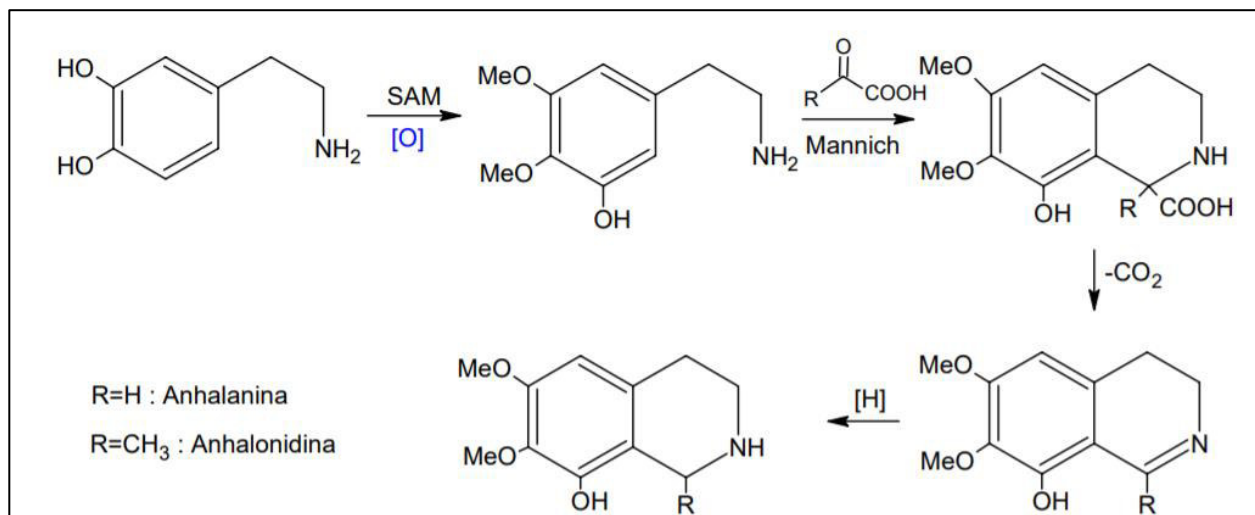


Figura 7. Biogénesis alcaloides isoquinoleicos simples a partir de la dopamina [31]

2.1.9 Biosíntesis de alcaloides bencilisoquinolínico

Los alcaloides tipos bencilisoquinolínico se forman a partir de dos moléculas de tirosina, la más conocida es la morfina el cual fue aislada por primera vez en 1804 por Friedrich Wilhelm Sertürner extraída del látex del opio, las bencilisoquinolínico poseen un amplio estudio esto se debe a sus propiedades farmacológicas en la medicina. Hoy en día se conocen un aproximado de 2500 estructuras (papaverina, noscapina, morfina, berberina, apomorfina y otros más) caracterizándose por poseer un esqueleto carbonado básico que proviene de un enlace entre un anillo isoquinolínico y otro bencil. La variedad estructural se debe a las modificaciones del esqueleto básico (1-btiq) por reacciones de hidroxilaciones, reducciones, oxidaciones, formación de enlaces C-C y O- y N-metilaciones. (Ver figura 8)

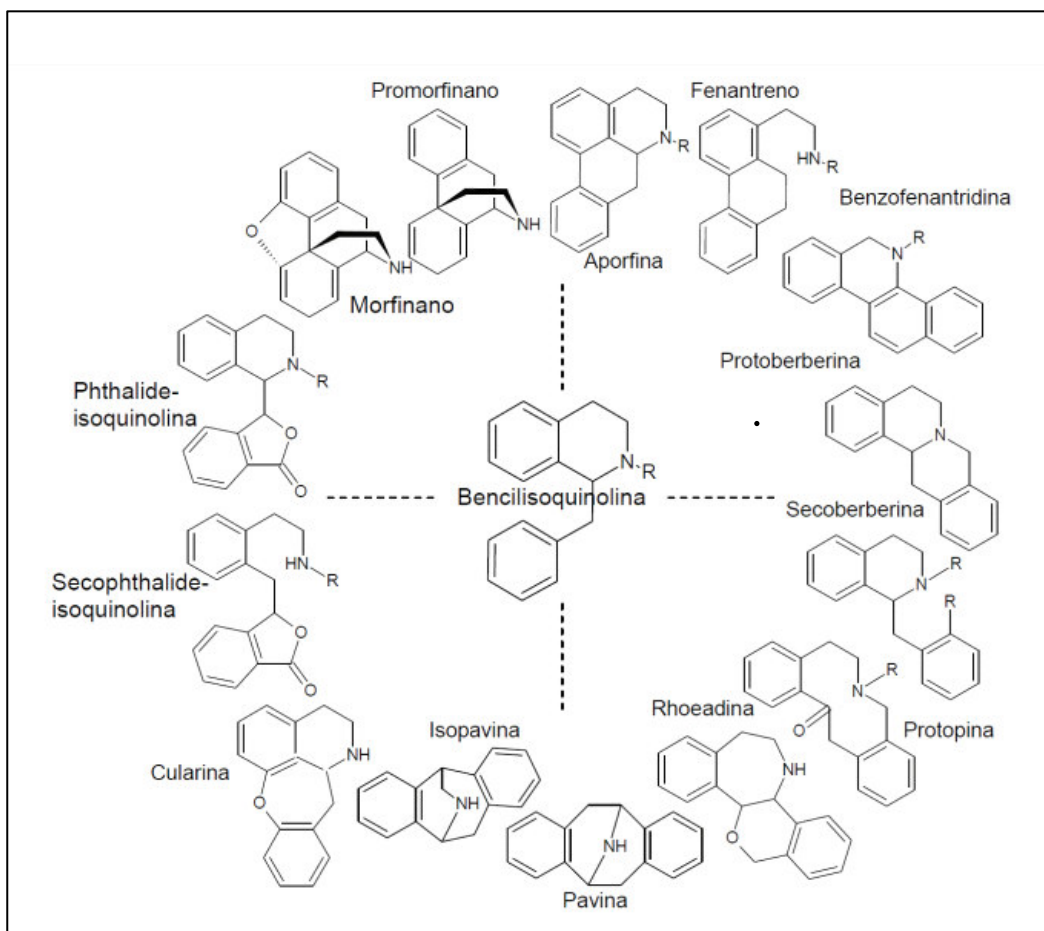


Figura 8. Diversidad estructural de alcaloides bencilisoquinolinicos.

2.1.10 Biogénesis de Benciltetrahydroisoquinoleinas (BTHIQ) y las Bisbencilterahidroisoquinoleinas (BBTHIQ)

La biosíntesis se realiza a partir de dos moléculas de tirosina donde existe un proceso de descarboxilación en una de ellas y una transaminación, luego el aldehído formado con la amina se condensa por medio de una reacción tipo Mannich (figura 10), generalmente las posiciones oxigenadas se ubican 1 y 2 – 9,10 -9,10 -10,11- 9,10,11-7 (figura 9).

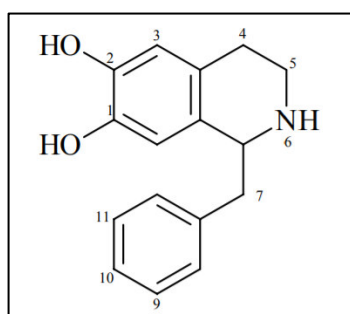


Figura 9. Posiciones oxigenadas

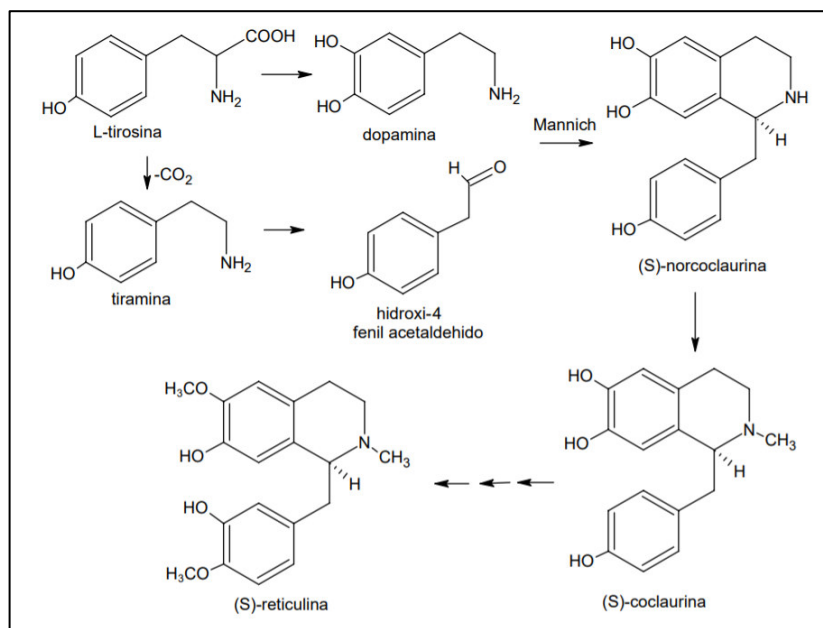


Figura 10. Biosíntesis de la reticulina [31]

2.1.11 Bis-bencilisoquinoleína

Este tipo de estructura se da por acoplamiento de los radicales libres y están unidos por enlaces de tipo éter o bifenílicos, los grupos oxigenados o fenólicos se encuentran en posiciones orto o para, actualmente se conocen más de 400 estructuras repartidas en una decena de familias donde las principales son: Menispermaceae (alrededor de 25 géneros), Ranunculaceae, Berberidaceae, Monimiaceae, Annonaceae y Lauraceae; se pueden clasificar en: alcaloides que sólo presentan grupos arilo acoplados, que contienen sólo un enlace éter, que contienen un enlace con un aromático y uno o dos enlaces éter, con dos enlaces éter y alcaloides con tres enlaces éter. (Ver figura 11 y 12)

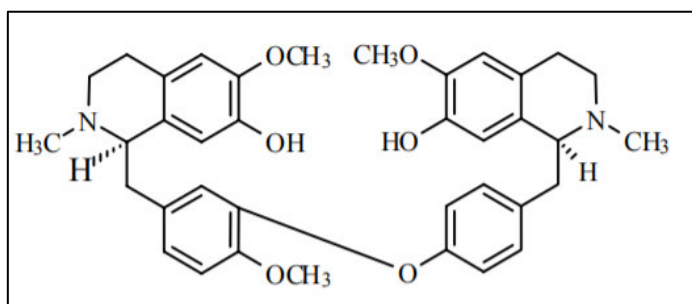


Figura 11. Taligrisina [31]

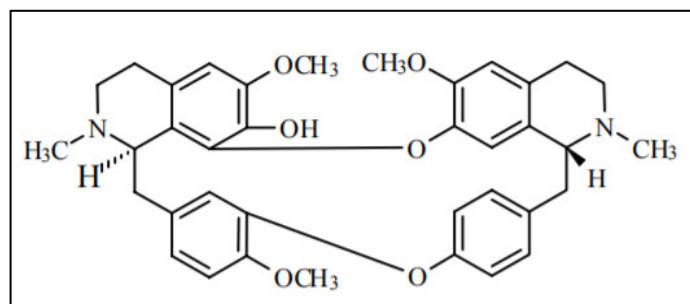


Figura 12. Limacina [31]

2.1.12 Alcaloides derivados del Triptófano

De este aminoácido precursor existe un gran número de alcaloides de los que podemos encontrar la fisostigmina, Harmano, Murrayanina y alrededor de 800 alcaloides derivados, en este grupo se encuentran los alcaloides indólicos que tienen propiedades alucinógenas y tiene su origen de síntesis por la vía shiquimico o por la vía ácido antranílico (Cruz J., 2021) y los alcaloides derivados del triptófano se clasifican en triptaminas y en no triptaminas, poseen en su estructura un anillo indólico y de forma bicíclica con un anillo bencénico unido a otro de cinco miembros (pirrol) y se subdividen en β -carbolina y en indoleninas pudiendo ser triptaminas simples o triptaminas complejas e isoprénicas o no isoprénicas.

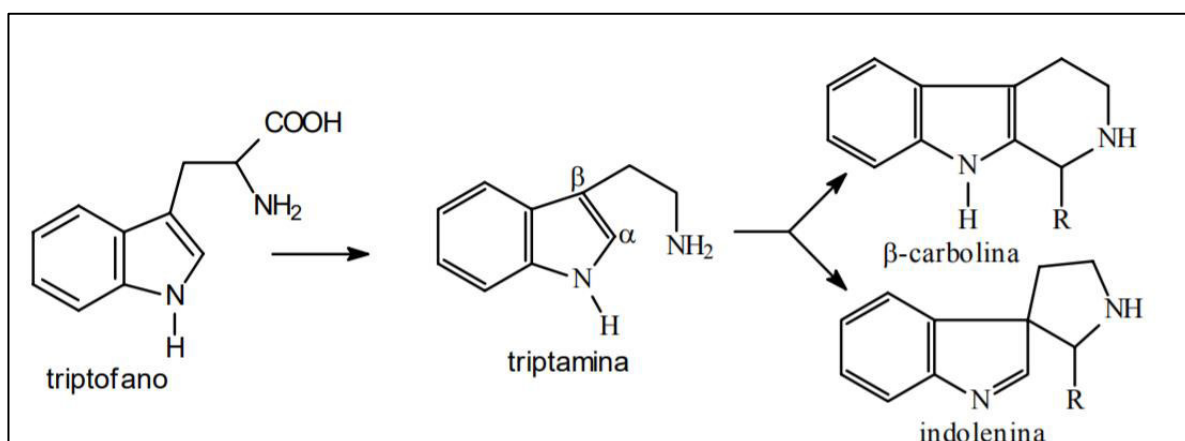


Figura 13. Alcaloides precursores del triptófano

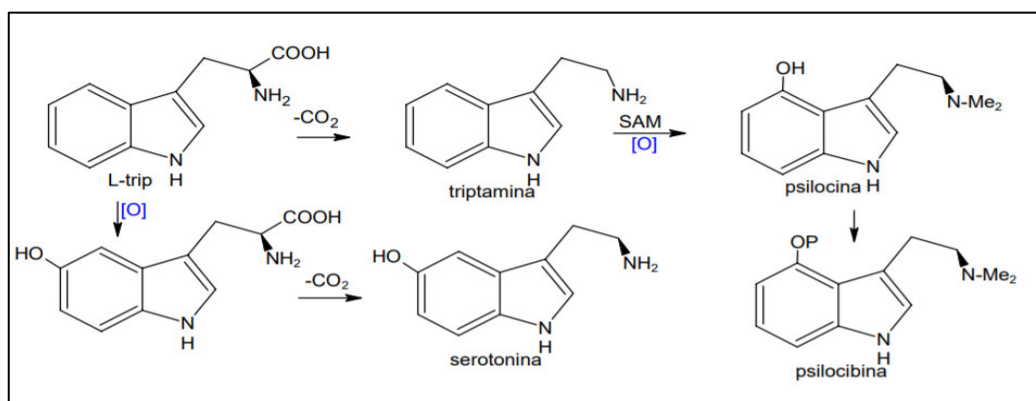


Figura 14. Triptaminas simples por reacciones de descarboxilación, metilación y oxidación del triptófano.

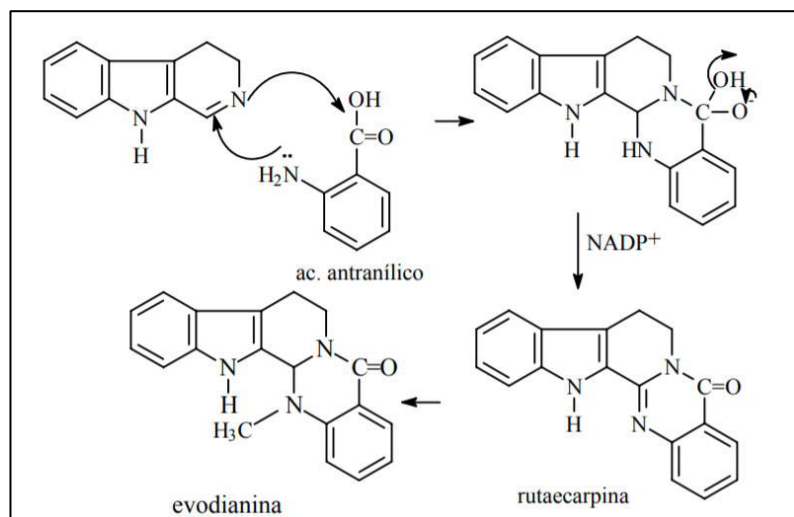


Figura 15. Triptaminas complejas no isoprénicas, biosíntesis de la evodianina y rutaecarpina.

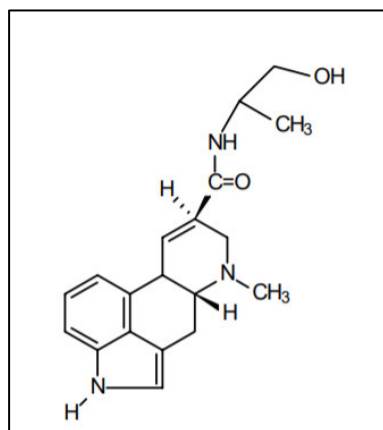


Figura 16. Triptaminas complejas isoprénicas, ergometrina.

2.1.13 Estudio fitoquímico

El análisis fitoquímico es un estudio preliminar cualitativo que nos permite obtener información sobre la presencia o la ausencia de los metabolitos secundarios en las especies vegetales. Como los metabolitos secundarios no cumplen funciones vitales para las plantas, estos no se encontrarán en todas las especies vegetales (esteroides, triterpenos, alcaloides, antraquinonas y naftoquinonas, taninos, saponinas, flavonoides, y cumarinas).

2.1.13.1 Extracción de alcaloides

Los métodos comunes para la extracción de los alcaloides pueden ser con solventes apolares cuando estos se encuentran en forma libre en las plantas (forma base) o en medio ácido cuando están en forma de sal, de esta manera se puede extraer en mezclas hidroalcohólicas o agua (acidulada).

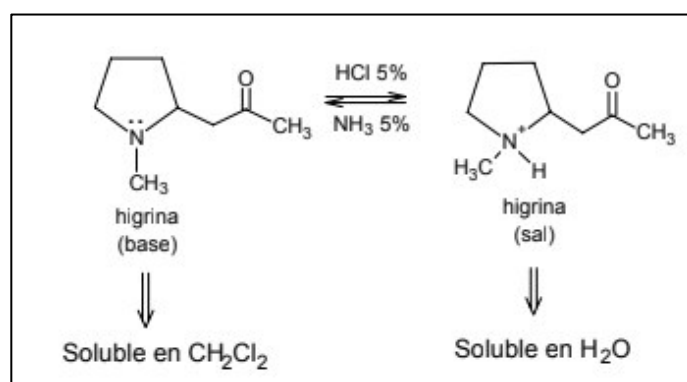


Figura 17. Solubilidad de alcaloides en solvente apolar y pH ácido

Para las extracciones se debe de tener en cuenta el material vegetal a estudiar (hojas, tallo, cortezas o látex); por ejemplo, para las plantas secas, estas deben molerse o pasa por un previo desengrasado, así pueden extraerse con los diferentes solventes y no dejar paso a las interferencias en su extracción o reconocimiento: solventes inmiscibles con el agua (cloroformo, diclorometano, benceno, acetato de etilo) o mezclas de solventes más polares como butanol-agua, metanol-agua.

2.1.14 Reacciones de reconocimiento de alcaloides

Existen una variedad de reactivos para la identificación de alcaloides, algunos de ellos detectan grupos de alcaloides con determinada estructura en común y otros para un tipo de alcaloide en específico, también reactivos de precipitación y reactivos que se utilizan para revelar la presencia de ellos en las placas cromatográficas.

Los reactivos de precipitación se basan en la formación de un complejo con el anillo del alcaloide y la combinación con los elementos metálicos; por ejemplo, se encuentran los reactivos de Dragendorff, donde se forma un precipitado de color rojo-anaranjado del compuesto yodobismutato potásico, también está el reactivo de Mayer donde su precipitado es de color blanco por el mercuriyoduro potásico o *p*-dimetilaminobenzaldehido (reactivo de Ehrlich), entre otros.

2.2 Aislamiento de alcaloides

Existen varios métodos, para el aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios, los cuales son los métodos fisicoquímicos no cromatográficos y métodos cromatográficos:

2.2.13 Métodos fisicoquímicos no cromatográficos:

Sedimentación, centrifugación, decantación, filtración, cristalización, etc.

2.2.14 Métodos cromatográficos:

2.2.2.1 Cromatografía en capa fina

Es un método utilizado dentro del área química y bioquímica para la separación de mezclas de compuestos y dentro de ellas se encuentran: moléculas orgánicas, iones inorgánicos, lípidos, entre otros. En este método existen dos fases que conforman el sistema cromatográfico de capa fina: la estacionaria, que generalmente es un sólido de sílice gel (SiO_2), y una fase móvil líquida; el solvente a utilizar dependerá del compuesto químico a separar.

El procedimiento consiste en utilizar placas de 5x5 cm de sílice gel, luego realizar el marcado con lápiz en la parte inferior de la placa como punto de partida y con un capilar agregar la muestra al cromatofolio para su separación y visualización cuando la fase móvil llegue a la parte superior de la placa cromatográfica.

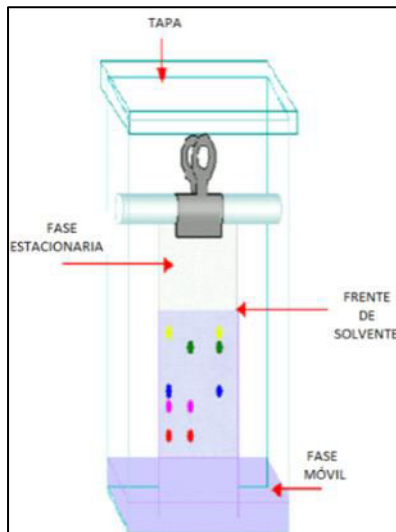


Figura 18. Representación de una cromatografía de capa fina y la separación de metabolitos de acuerdo con su polaridad

2.2.2.2 Cromatografía en columna

Esta técnica nos permite separar y obtener compuestos de mayor pureza, al igual que la cromatografía de capa fina está conformada por las dos fases del sistema cromatográfico y se utiliza una columna de vidrio que a su interior posee un sólido adsorbente como fase estacionaria (de silica gel o de alúmina) y la fase móvil del eluyente elegido para la separación del compuesto químico. En la parte superior de la columna se agrega la muestra a separar, por gravedad y la interacción del compuesto con la fase estacionaria-móvil se transportarán en diferentes tiempos.

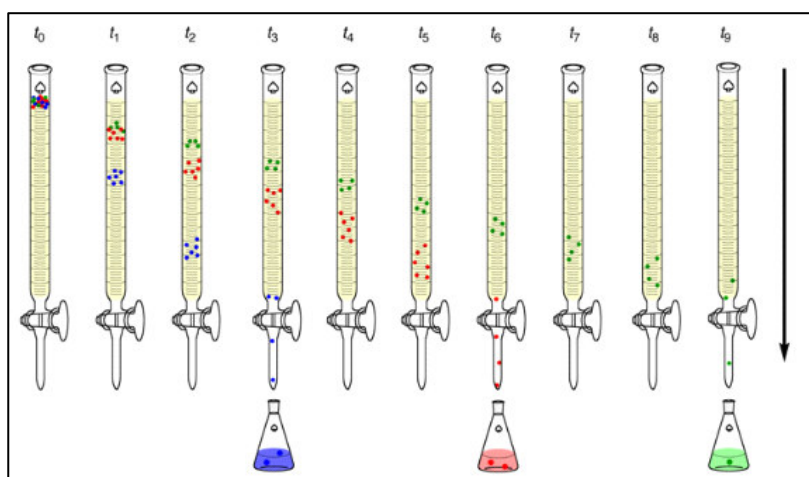


Figura 19. Representación de una cromatografía de columna

2.2.2.3 Cromatografía preparativa

La cromatografía preparativa es un método de separación de componentes químicos mediante una retención selectiva, también se utiliza como método de purificación. Las placas para este análisis normalmente son grandes (20x20 cm), sus dimensiones permiten obtener aproximadamente 1 g de la especie molecular.

2.3 Análisis instrumental para la identificación de los alcaloides

Las técnicas de análisis instrumental utilizadas nos ayudarán en la caracterización química e identificación de los compuestos químicos a investigar.

2.3.1 Espectrofotometría ultravioleta visible (UV-VIS)

Es una técnica empleada en diferentes campos de estudio, permite identificar y cuantificar compuestos químicos; la mayoría de las moléculas absorben en el rango de longitud de onda de UV-VIS y el cual comprende una longitud onda entre 160-780 nm. Estas absorciones provocan transiciones electrónicas en la molécula, estimulando el estado excitado del electrón pudiéndose cuantificar y correlacionarse con los distintos tipos de enlace presentes en el compuesto.

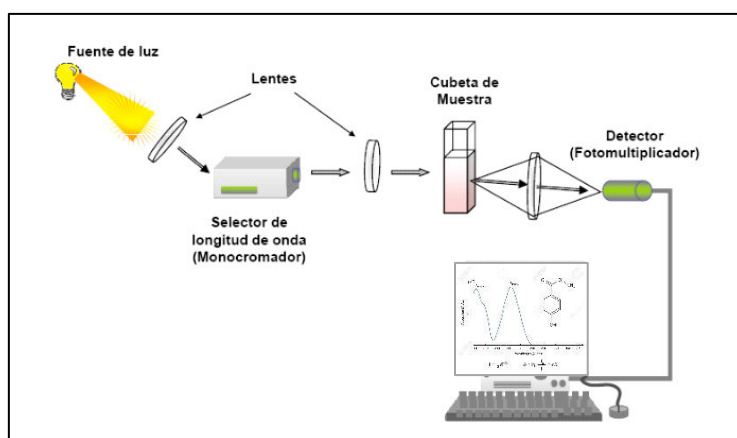


Figura 20. Representación del proceso de lectura de un ultravioleta visible (UV-VIS) columna.

2.3.2 Espectrofotometría infrarroja (IR)

Esta es una de las técnicas más usadas para la identificación de compuestos orgánicos e inorgánicos (polímeros, combustibles, mineras, etc.), este ensayo nos brinda información de los grupos funcionales de la estructura del compuesto, de las tres regiones del espectro electromagnético la región entre $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ se utiliza para la identificación de las frecuencias vibracionales fundamentales del compuesto químico. En la actualidad, los espectrofotómetros de infrarrojo utilizan un interferómetro y ya no un monocromador; esta radiación policromática incide en el compuesto químico y los espectros son obtenidos en el dominio de la frecuencia con ayuda de la transformada de Fourier.

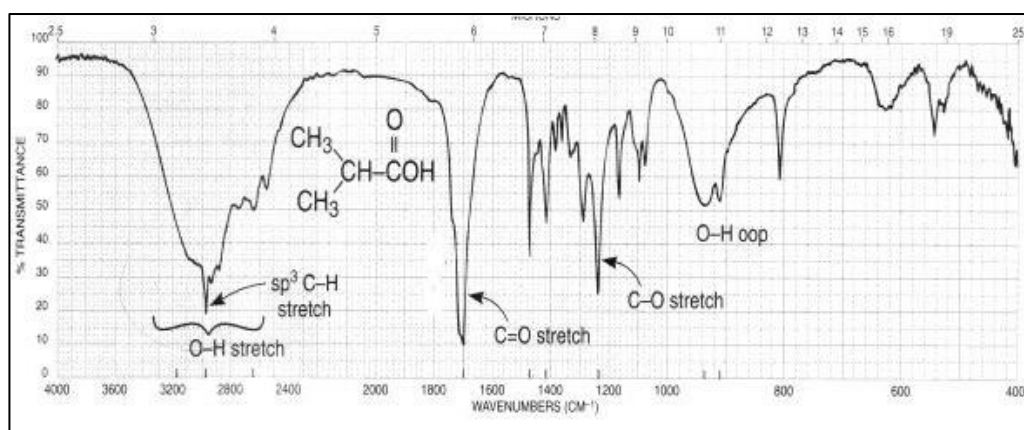


Figura 21. Representación del proceso de lectura de un espectro IR.

2.3.3 Espectrofotometría de resonancia magnética nuclear (RMN)

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de alta resolución constituye una de las técnicas de mayor utilidad de las empleadas en la Química para determinar estructuras moleculares. Esta técnica nos permite analizar núcleos como ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F y ^{31}P , y lo más utilizados en química orgánica y útiles para la erudición estructural son ^1H -RMN y de ^{13}C -RMN ya que nos brinda información sobre los desplazamientos químicos característicos.

2.3.4 Espectroscopia de RMN Bidimensional

Las siguientes técnicas bidimensionales han sido utilizadas para dilucidar las estructuras moleculares, permitiéndonos estudiar las correlaciones de diferentes protones a distancia o enlazados directamente a los carbonos (^{13}C) del compuesto químico:

2.3.4.1 HSQC–Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy

Este experimento nos permite identificar los protones que están directamente enlazados al carbono (^{13}C).

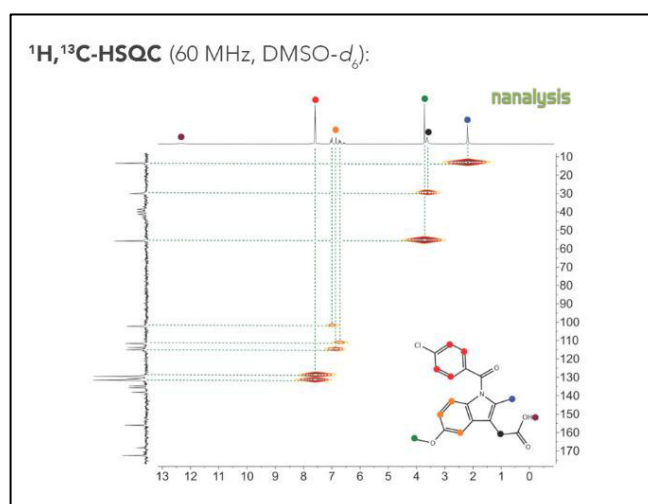


Figura 22. Representación de un espectro HSQC.

2.3.4.2 HMBC-Heteronuclear Múltiple Bond Correlation

Este experimento nos permite detectar los protones que se encuentran a 2 o 3 enlaces de distancia de los carbonos (^{13}C).

2.3.4.3 Espectrometría de masas de Alta Resolución híbrido con analizadores cuadrupolo-tiempo

Es una técnica de análisis cualitativo de alta precisión para la determinación del peso molecular del compuesto analizar, esta herramienta se utiliza en diferentes ámbitos como en el

análisis ambiental, en productos naturales, toxicología e investigación. Se les conoce como híbrido a las diferentes combinaciones de analizadores específicos, como el cuadrupolo (Q), trampa de iones, sector magnético, analizador electrostático o el de tiempo de vuelo (TOF), la importancia de la espectrometría híbrida es que a mayor sean las combinaciones nos ayudara en la calidad de la información, su confiabilidad y la especificidad.

CAPITULO III: METODOLOGÍA

El procedimiento de la investigación de la resina de Capunuri comprende tres etapas, las cuales son: 1.- La descripción del estudio fitoquímico del extracto hidroalcohólico, hexano, diclorometano; 2.- aislamiento (extracción, separación y purificación), identificación y elucidación estructural de los alcaloides por métodos espectroscópicos UV-VIS, FT-IR, RMN de ^1H Y ^{13}C y Bidimensional (HSQC y HMBC) y 3.- cuantificación de los alcaloides totales por el método espectroscópico UV-VIS.

3.1. Materiales, Reactivos y equipos

3.1.1 Materiales

Los materiales que se emplearon en esta investigación son de vidrio, madera y metálicas, todos ellos de usos común en los laboratorios de química orgánica de productos naturales.

3.1.2 Reactivos

Los reactivos utilizados son de uso común del laboratorio de investigación de productos naturales todos son de grado analítico y de la marca Merck, como la atropina pura, ácido cítrico, fosfato de sodio, silica gel y metanol deuterano.

3.1.3 Equipos

Espectrofotómetro de FTIR (marca: Thermo, modelo: spectronic Genesys® II ATR, software: OMNIC), Espectrofotómetro de UV-Visible (marca: Thermo, modelo: Hehios V, Software: visión pro), marca: Shimadzu, modelo: UV-1700, software: UV-Probe, Espectrofotómetro de RMN (Marca: Bruker®, Modelo: Avant 400), Balanza analítica Sartorius Quintix 124-1, Espectrometría de masas de Alta Resolución híbrido con analizadores

cuadrapolo-tiempo (Marca: Applied biosystems), Lámpara UV (marca: UVP, UVGL-15/254/365nm), Rotavapor (marca: buchi, modelo: R-100), Bomba de vacío.

3.2 Análisis preliminar

3.2.1 Muestra y Recolección

El material de investigación es una resina vegetal (capinuri) este se recolecto en frascos ámbar en los centros poblados de Juancito y La Pedrera en el departamento de Loreto. Se realizó según el método de recolección de pica de corteza (Pinillo F. et al, 2004).

Para la identificación taxonómica, se llevó a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.2.2 Prueba de solubilidad

Se realizaron las pruebas de solubilidad con diferentes solventes de distintas polaridades, para determinar los análisis cualitativos correspondientes (Jiménez A. 2015).

3.2.3 Obtención de extractos para la marcha fitoquímica

Se obtuvieron extractos en los diferentes solventes, y para cada uno de ellos se realizó la marcha fitoquímica para la identificación de los metabolitos secundarios contenidos en la resina de *Maquira Coriácea* (Bergoño S. 1994).

3.3 Marcha fitoquímica

Se desarrolló la marcha fitoquímica con las reacciones de coloración y precipitación en los diferentes extractos (Lock O. 1994).

3.4 Aislamiento de alcaloides

Para la extracción de los alcaloides se realizaron varias etapas; en la primera etapa se determinó el solvente más adecuado para la extracción de los alcaloides, una vez identificado se dejó macerar en frío 100 g de la resina de capinuri en un recipiente ámbar con solvente hidroalcohólico durante 25 días. Posteriormente, se llevó a un rotavapor para llevarla a casi sequedad, disolverla en una solución ácida de HCl al 2%. Los alcaloides de esta solución ácida se extrajeron con diclorometano en una pera de decantación obteniéndose el extracto de nombre “L”.

La solución ácida inicial de pH=1 se llevó a pH=8.5 con NH₄OH diluido y se realizó una extracción con diclorometano obteniéndose dos extractos, los cuales llamamos; extracto “M” de la fase acuosa y el extracto “O” de la fase orgánica (Bergoño S. 1994).

La segunda etapa consistió en la separación, se determinó la polaridad de separación y los sistemas de fases móviles de los componentes en cada extracto “L”, “M” y “O” aplicando cromatofolios y eluyentes de menor a mayor polaridad.

La cromatografía en columna para los extractos “L”, “M” y “O”, consistió en utilizar SiO₂ de grano fino en sistemas de Hexano (C₆H₁₄):diclorometano (CH₂Cl₂), Hexano (C₆H₁₄):acetato de etilo (C₄H₈O₂), acetato de etilo (C₄H₈O₂):metanol (CH₃OH), en donde se obtuvieron 18 frascos de la columna cromatográfica del extracto “L” y 19 frascos del extracto “M”, a los cuales se les realizó cromatografía de capa fina para determinar los factores de retención (R_f) de cada frasco obtenido.

La etapa final de la purificación se llevó a un envase para cromatografía preparativa en placas de 10x10 cm con las fracciones de R_f determinados en los cromatogramas de capa fina

anteriores, estos fueron recolectados para los análisis espectroscópicos. El diagrama del proceso se observa en el anexo 1.

3.5 Análisis y elucidación estructural espectroscópicos de los metabolitos aislados

Los análisis espectroscópicos de los metabolitos que se han realizado son los siguientes.

3.5.1 Espectro Ultravioleta (UV-VIS)

Se disolvió las muestras una de coloración azul fluorescente y una transparente en metanol, se llevó al espectrofotómetro que tiene una longitud de lectura de 190 y 450 nm y el Software visión pro (Laboratorio de orgánica, Facultad de química e ing. Química UNMSM).

3.5.2 Espectro Infrarrojo (IR)

Se realizó la lectura de la muestra disuelta en metanol sobre el diamante, previamente lavado con isopropanol para su lectura utilizando el software OMNIC.

3.5.3 Espectrofotometría de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C lo realizó el Dr. Jesús Rodilla en (DMSO) disolvente deuterado y se hace referencia al pico residual de (DMSO a 2,50 ppm y 39,5 ppm para ^1H y ^{13}C), respectivamente, usando un espectrofotómetro Bruker® Avant 400, a 400 MHz y 100 MHz para protón y carbono, respectivamente. Los desplazamientos químicos (δ) se indican en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) se dan en Hertz.

Los experimentos 2D de RMN como HSQC y HMBC se utilizó el mismo equipo Bruker® Avant 400, a 400 MHz y 100 MHz con las mismas frecuencias. (Nucleus, Universidad de Salamanca)

3.5.4 Espectrometría de Masas de Alta Resolución Híbrido con Analizadores Cuadrupolo-Tiempo

El equipo usado fue un espectrómetro de masas híbrido de cuadrupolo-tiempo de vuelo de la marca APPLIED BIOSYSTEMS, se analizó la muestra mediante ionización por electrospray en modo positivo, realizándose la inyección por disolución en metanol de esta.

Los espectros de masas se presentan como m/z (% de rel Int). Los espectros de HRMS-Q se registraron en un espectrómetro con plataforma VG (FISONS) utilizando la técnica de ionización química (amoníaco como gas) o de bombardeo de átomo rápido (FAB) (NUCLEUS, Universidad de Salamanca).

3.6 Cuantificación de los alcaloides totales: Método espectrofotométrico con bromocresol verde

La metodología se realizó de acuerdo con Shamsa F. et al, 2008, realizándose algunas modificaciones que se indican a continuación.

3.6.1 Preparación de la curva de calibración utilizando como patrón atropina

Se introdujo 1 mg de atropina pura en un matraz volumétrico de 10 mL y se enrasó con agua destilada (concentración 100 ppm, solución estándar), luego se midió con precisión alícuotas de 0.2 mL; 0.3 mL; 0.4 mL; 0.5 mL; 0.6 mL de solución estándar de atropina y transferirlas a diferentes embudos de separación. Luego, se agregaron 5 mL de tampón (fosfato de sodio) con un pH=4.7 y 5 mL de solución de verde de bromocresol, se agitó y se extrajo con 1; 2; 3 y 3.5 mL de cloroformo. Los extractos se recogieron en un matraz aforado de 10 mL y luego se ajustó el volumen con cloroformo. El blanco se preparó siguiendo el mismo procedimiento, pero sin atropina. La absorbancia del complejo formado se leyó a 470 nm en el espectrofotómetro UV-VIS (Shamsa F. et al, 2008).

3.6.2 Extracción hidroalcohólica (EH) en frío de los alcaloides totales

Se tomaron las extracciones en frío y por reflujo, este residuo se disolvió en HCl [2,0 N] y luego se filtró, 1 mL de esta solución fue transferida a un embudo de decantación y se lavó con 5 mL de cloroformo (3 veces).

El pH de esta solución se ajustó a neutro con NaOH 0,1 N. Luego se agregaron 5 ml de solución de BCG y 5 ml del tampón (fosfato de sodio) a esta solución. La mezcla se agitó y el complejo formado se extrajo con 1; 2; 2.5 y 3 mL de cloroformo mediante agitación vigorosa. Los extractos se recogieron en un matraz aforado de 10 mL, luego se ajustó el volumen con cloroformo. La absorbancia del complejo en cloroformo fue medida a 470 nm (Shamsa F. et al, 2008).

CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Recolección y muestreo

Esta resina fue recolectada en el mes de julio en la quebrada de Maquilla, de los centros poblados de Juancito y La Pedrera en el departamento de Loreto. Se realizó el método pica de corteza que consistió en realizar incisiones con un machete a la corteza del árbol para la obtención de la resina. Se obtuvo 1.5 L de resina, la cual fue recolectada en un frasco ámbar como se muestra en la figura 24, para ser trasladada al laboratorio de productos naturales de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la UNMSM (Lima).

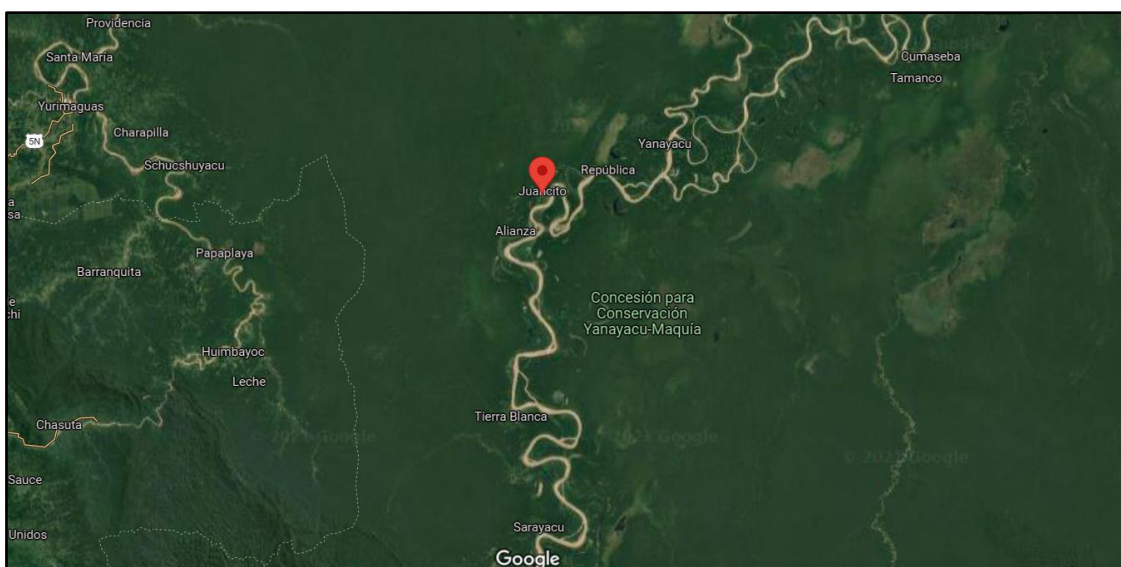


Figura 23. Fuente: Google maps, localización del punto de muestreo



Figura 24. Franco ámbar de recolección de la resina

4.2 Taxonomía del Capinuri

La planta fue identificada y clasificada en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por la Lic. Bióloga Beatriz Roca Ramos como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Identificación taxonómica

Nombre comun	Reino	División	Clase	Subclase	Orden	Familia	Género	Especie
Capinurí	<i>Plantae</i>	<i>Magnoliophyta</i>	<i>Magnoliopsida</i>	<i>Hamamelidae</i>	<i>Urticales</i>	<i>Morácea</i>	<i>Maquira</i>	<i>Maquira coriacea</i>



4.3 Prueba de solubilidad

Se evaluó la solubilidad de la resina de la *Maquira coriácea* para determinar el solvente a utilizar en la extracción de los metabolitos secundarios y determinar el carácter polar o no polar de la resina; en la prueba de solubilidad se utilizó el hexano, diclorometano, etanol y una mezcla hidroalcohólica para el análisis, en el cual se observó que la solubilidad fue incrementándose de acuerdo con la polaridad del solvente como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Resultados de la solubilidad de la resina de capinuri

Solventes	Solubilidad en frio	Notación de solubilidad
Hexano	Insoluble	-
Diclorometano	Solubilidad baja	+
Etanol	Solubilidad media	++
Mezcla hidroalcohólica	Soluble	+++
Agua	Soluble	+++

Leyenda: Solubilidad muy evidente (+++), solubilidad medianamente evidente (++) solubilidad poco evidente (+) y no hubo solubilidad (-).

4.4 Marcha Fitoquímica

La determinación de la marcha fitoquímica se realizó con diferentes solventes de extracción donde se consideró la afinidad de los metabolitos secundarios y las posibles interferencias al momento de realizar el procedimiento con un solo solvente. En la tabla 4 muestran los resultados del tamizaje fitoquímico en los diferentes extractos y en la tabla 5 los resultados positivos de los metabolitos secundarios encontrados en la resina de capinuri.

Del extracto de hexano se realizaron las pruebas de identificación de saponinas. En el análisis con el ensayo del Reactivo de Salkowski se muestra una coloración de precipitado característico anaranjado oscuro, esto nos indica que hubo una reacción positiva (+++) y la presencia de este metabolito secundario (figura 25).

Se realizó el ensayo de espuma en solución acuosa, pero mostró un resultado (+) poco evidente.

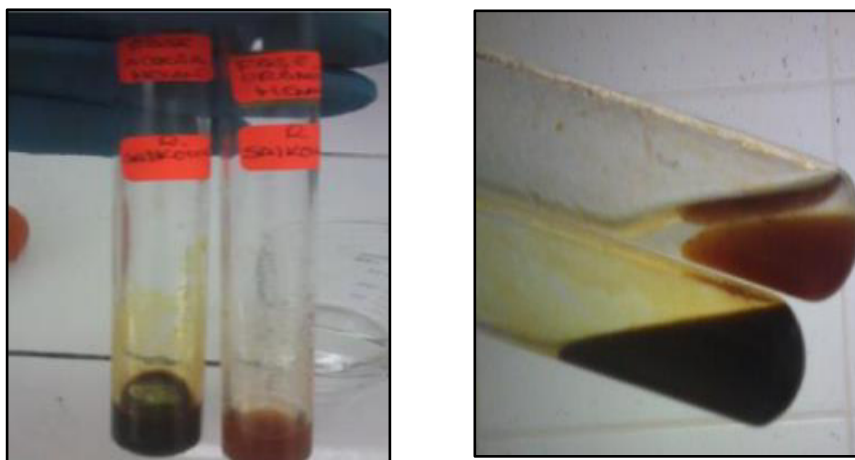


Figura 25. Precipitados característicos de saponinas por reacción de Salkowski

Del extracto acuoso se realizó la prueba de identificación de taninos. En el análisis con el ensayo del Reactivo de Cloruro férrico (FeCl_3), pp $\text{H}_2\text{O}-\text{Br}_2$, formaldehído, acetato de plomo y gelatina; se muestra coloraciones características de la presencia de taninos dando reacción positiva (+++) como resultado (figura 26).



Figura 26. Precipitados característicos de taninos

Del extracto etanólico se realizaron las reacciones de identificación de flavonoides. Con el ensayo de Shinoda, FeCl_3 y NaOH al 20%; se muestran coloraciones características por la presencia de flavonoides dando reacción positiva (+++) como resultado (figura 27).



Figura 27. Precipitados característicos de flavonoides

Del extracto hidroalcohólico se realizó la prueba de identificación de alcaloides. En el análisis con el ensayo de Mayer, Wagner y Dragendorff; se muestra coloraciones características de la presencia de alcaloides dando reacción positiva (+++) como resultado (figura 28).



Figura 28. Precipitados característicos de alcaloides

En la reacción de Dragendorff, el yodo forma un complejo con el anillo del alcaloide y se observa el precipitado de color naranja característico de la presencia de un alcaloide producto de la formación del tetrayoduro bismutato de potasio (figura 29).

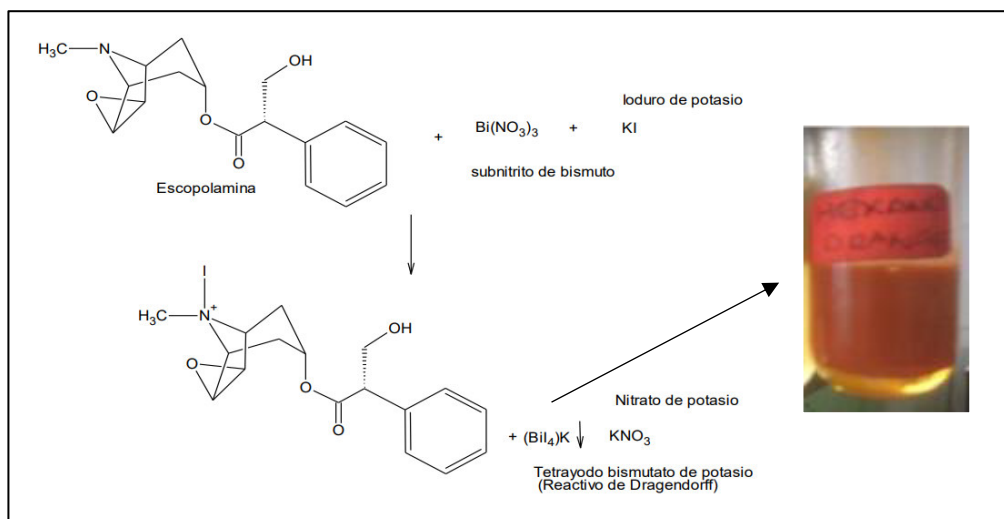


Figura 29. Reacción de Dragendorff:

En la reacción de Mayer, el yodo forma un complejo con el anillo del alcaloide y se observa el precipitado de color blanco característico de la presencia de un alcaloide producto de la formación del tetrayodo mercuriano de potasio (figura 30).

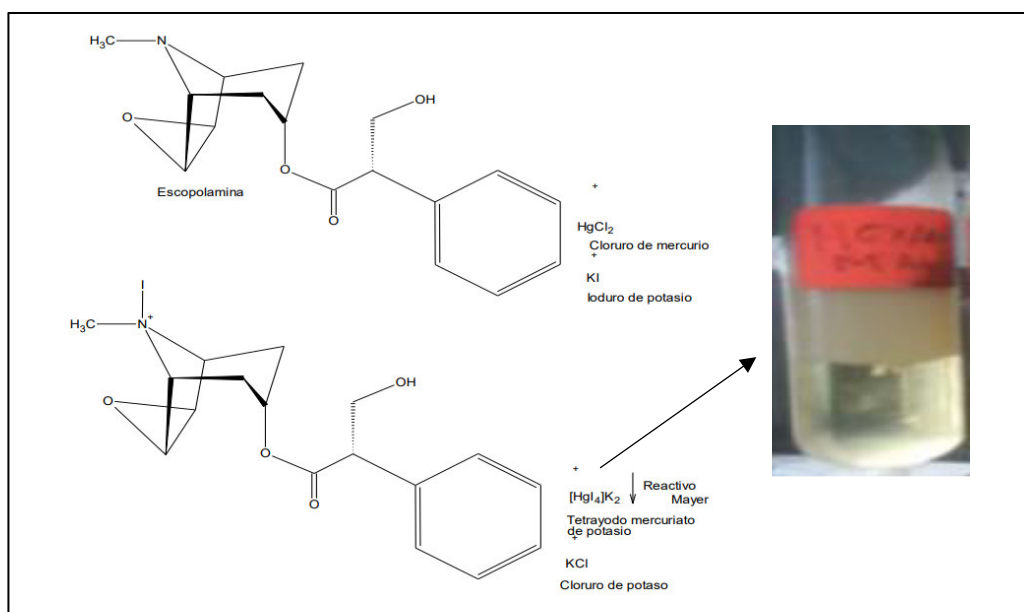


Figura 30. Reacción de Mayer

Tabla 4. Resultados del tamizaje fitoquímico con diferentes solventes

Metabolito	Solvéntenes utilizados para las extracciones				
	Hexano	Diclorometano	Etanol	Mezcla hidroalcohólica	Acuoso
Saponinas	+++	-	-	-	+
Taninos	-	-	+	++	+++
Flavonoides	-	-	+++	++	++
Alcaloides	-	-	+	+++	-

*Solo prueba de espuma

Tabla 5. Resultados de la marcha fitoquímica de la resina de capinuri

Metabolitos	Ensayo	Método	Notación de resultados	Color
Saponinas	Prueba de <i>Salkowski</i>	Cualitativo	+++	pp. Naranja oscuro
	Prueba de la espuma	Cualitativo	+	Burbujas
Taninos	Reactivo de Gelatina	Cualitativo	+++	pp. Blanco
	Reactivo de FeCl ₃	Cualitativo	+++	pp. Marrón-Negro
	Reactivo de H ₂ O-Br ₂	Cualitativo	+++	Formación de precipitado
	Reactivo Formaldehido	Cualitativo	+++	pp. Blanco-Total
	Reactivo Acetato de plomo	Cualitativo	+++	pp. Amarillo
Flavonoides	Reactivo de Shinoda	Cualitativo	+++	pp. Naranja-Rojizo
	Reactivo de FeCl ₃	Cualitativo	+++	pp. Verdoso oscuro
	Reactivo de NaOH al 20%	Cualitativo	+++	pp. Naranja
Alcaloides	Reactivo de Dragendorff	Cualitativo	+++	pp. Naranja
	Reactivo de Wagner	Cualitativo	+++	pp. Marrón Tenue
	Reactivo de Mayer	Cualitativo	+++	pp. Blanco

Leyenda: Reacción muy evidente (+++), reacción medianamente evidente (++)
reacción poco evidente (+), no hubo reacción (-).

4.4.1 Resultados de la obtención del extracto “L”

Se maceraron 100 g de la resina de capinuri en un recipiente ámbar con 3 armadas de 300 mL de un sistema etanol:agua de proporción 3:1 durante 25 días, siendo un total de 900 mL. Una vez extraído se llevó a un equipo de rotavapor donde se obtuvo una pasta marrón por sequedad, la cual se disolvió con una solución ácida de HCl al 2% con un pH=1 y se agitó por un periodo de 1 hora; para posteriormente pasar por un proceso de deslipidación con éter de petróleo y realizar la extracción con diclorometano, obteniéndose el extracto llamado “L”. Se obtuvieron 18 frascos (ver anexo 2), se realizó una cromatografía de capa fina en láminas de poliéster Polygram SIL G/UV254 de 4x8 cm, con tamaño de poro 60 Å, capa espesor de 0.25 mm con indicador de silicato de zinc activado por manganeso y fluorescencia verde para UV de onda corta A (254 nm), pigmento fluorescente inorgánico especial con fluorescencia azul para UV de onda larga B (366 nm), en un sistema de hexano:CH₂CL₂ (1:3); obteniéndose tres frascos con fluorescencia azul y uno de color amarillo tenue como se muestra en la figura 31, a estos compuestos se les realizó las pruebas de alcaloides dando resultado positivo (ver tabla 6).

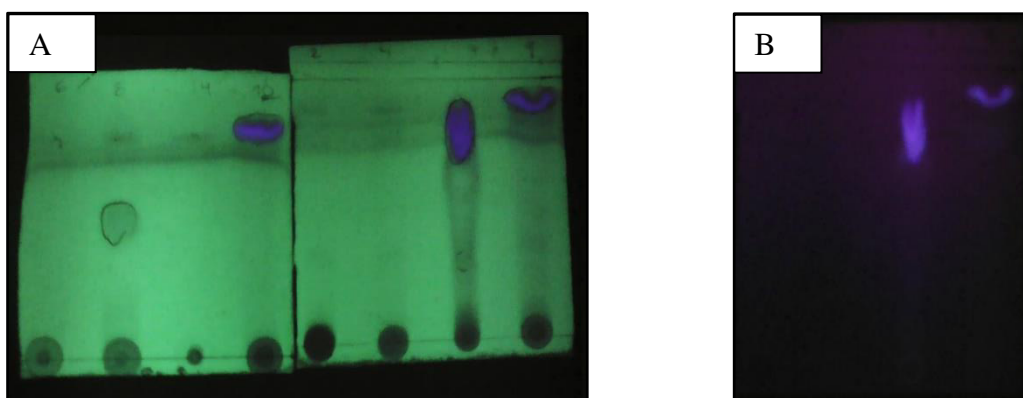


Figura 31. Observación de los 3 frascos con fluorescencia azul bajo una lámpara UV

Tabla 6. Resultados de reacciones de identificación para las muestras obtenidas

Metabolito	Identificación de alcaloides	Ensayo	Método	Notación de resultados
Florescencia azul	Reactivo de Dragendorff	Cualitativo	+++	pp. Naranja
Florescencia amarilla	Reactivo de Wagner	Cualitativo	+++	pp. Marrón Tenue
	Reactivo de Mayer	Cualitativo	+++	pp. Blanco

4.4.2 Cromatografía preparativa

Una vez identificado el sistema se realizó una cromatografía preparativa de 10x10 cm, con tamaño de poro 60 Å, capa espesor de 0,25mm, con indicador silicato de zinc activado por manganeso con fluorescencia verde para UV de onda corta A (254 nm), pigmento fluorescente inorgánico especial con fluorescencia azul para UV de onda larga B (366 nm) como método de purificación y concentración de estos compuestos con el sistema hexano:CH₂CL₂ con (1:3). Se determinaron los factores de retención (Rf) los cuales se presentan en la tabla 7.

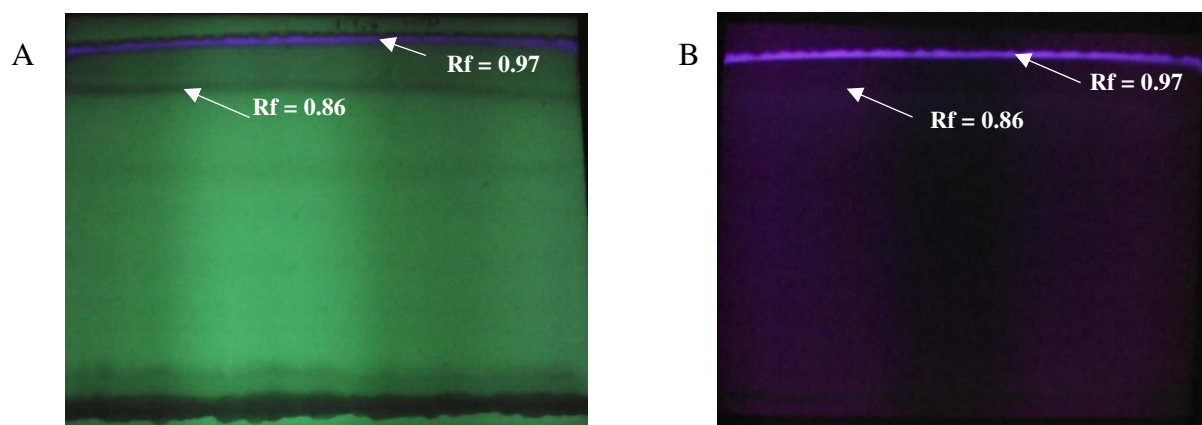


Figura 32. Observación de la fluorescencia y los factores de retención bajo una lámpara UV.

Tabla 7. Valores de Rf de las fracciones del extracto “L”

Fracción	Factor de retención (RF)	UV 366nm	UV 254 nm
Rf ₁	0,97	Fluorescencia azul	Fluorescencia
Rf ₂	0,86	Fluorescencia amarilla Tenue	No fluorescencia

4.5 Elucidación estructural de los compuestos obtenidos Rf₁ y Rf₂

4.5.1 Elucidación estructural del compuesto Rf₁=0,97

4.5.1.1 Espectroscopía UV-VIS

Según los resultados la marcha fitoquímica y de los análisis cromatográficos explicados anteriormente el espectro UV-VIS del compuesto de Rf₁=0,97, de la familia Morácea, extraída y purificada en cromatografía preparativa, es un sólido amarillo tenue y soluble en metanol.

Se le realizó un barrido de 190-450 nm, obteniéndose longitudes máximas en el espectro UV-VIS en metanol de 230 y 259 nm (figura 33), longitudes cercanas a las reportadas para el pirrol-3carbamida de 234,5 y 262,1 nm como se muestra en la figura 34 del libro de la Dra. Olga Lock.

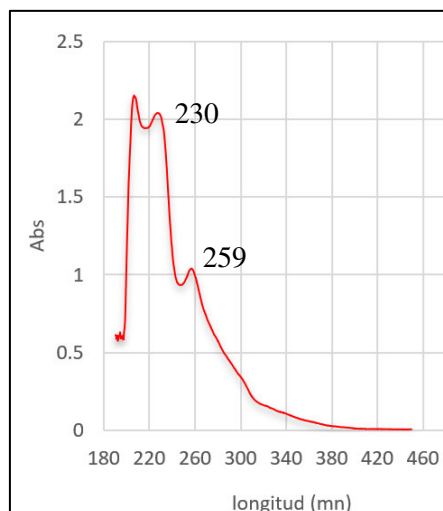


Figura 33. Gráfica UV del compuesto Rf₁

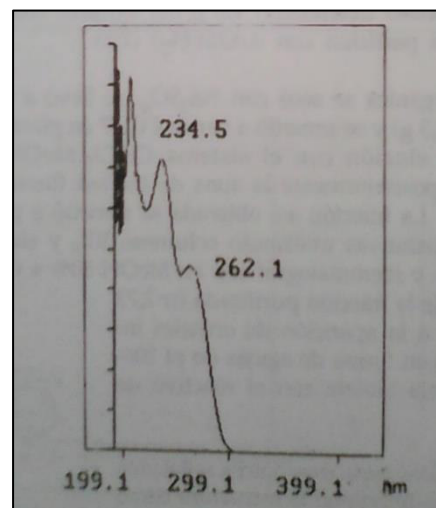


Figura 34. Espectro UV del pirrol-3carbamida

4.5.1.2 Espectroscopía infrarroja

En la figura 35 se observa el espectro FT-IR para $Rf_1=0,97$ que muestra los grupos funcionales y nos permite identificar la estructura química del compuesto, también se muestra un espectro teórico con un 88% de similitud a la tintura de valeriana véase figura 36 y la composición de alcaloides encontrados en la tintura de valeriana son: Pirrol-alfa-metilcetona, naftiridinametilcetona, valeriana y actidinina, donde observamos la presencia de una estructura de pirrol figura 37.

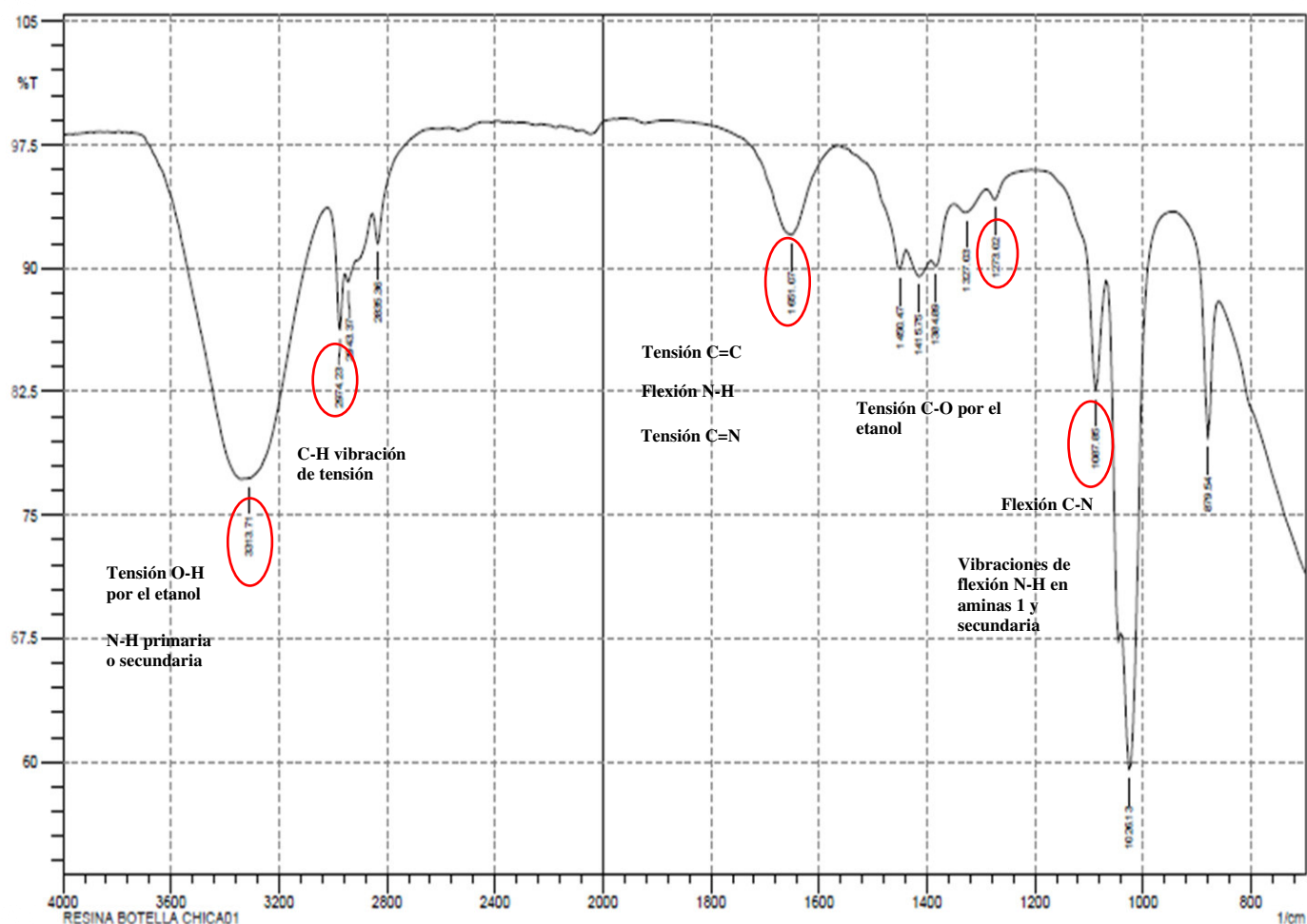


Figura 35. Espectro IR del compuesto Rf_1

Se observa banda de tensión O-H a los 3300.71 cm^{-1} , este valor de esa banda puede ser por el disolvente utilizado (etanol), también esta banda puede superponerse a las posibles bandas del N-H de las aminas primarias que se encuentran en los $3500\text{ a }3300\text{ cm}^{-1}$, y en las aminas secundarias por los $3350\text{ a }3310\text{ cm}^{-1}$.

Por los $3000\text{-}2800$ estas bandas son características de vibración de tensión C-H de radicales del grupo metilos, metilenos y metino, en la banda de $1700\text{-}1615\text{ cm}^{-1}$, nos puede indicar la posible presencia de tensión C=N, las vibraciones de flexión del enlace N-H en el caso de las primarias se encontrarán bandas con una intensidad chica a mediana y para las secundarias una intensidad ancha, en la banda 1470 cm^{-1} , notamos bandas que posiblemente nos indiquen la presencia de los C-H del metileno ($\text{R}=\text{CH}_2$) y $1460\text{-}1380\text{ cm}^{-1}$ los estiramientos y la torsión de los enlaces tipo C-H de radicales metilenos ($-\text{CH}_3$), por las bandas de $1600\text{-}1475$ posiblemente puedan indicar la presencia de un C=C en un heteroátomo aromático y se deben de encontrar estas bandas ν $1450, 1500, 1580, 1600\text{ cm}^{-1}$ (fuerte a débil), en los picos $1260\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, esta banda es del estiramiento C-O posiblemente de un alcohol primario un pico característico en la zona de la huella dactilar que posiblemente sea una vibraciones de flexión N-H en aminas 1 y secundaria (véase tabla 8)

Tabla 8. Bandas de absorción y estructuras orgánicas del espectro IR de la muestra

Bandas cm^{-1}	Grupo Funcional	Observaciones
3300.71	O-H	Una banda de vibración de tensión O-H que posiblemente sea del etanol o de algún O-H enlazado a la molécula.
3500-3300	N-H	Si, fuera una amina primaria R-NH ₂ se notarían 2 bandas. No se descarta la presencia por la superposición de la banda del O-H.
3350-3310	N-H	En el caso sea una amina secundaria R-NH-R /Ar-NH-R, solo aparecerá una banda, no se descarta la presencia por la superposición de la banda del O-H.
3000-2800	C-H	Los metilos (R-CH ₃) resuenan por esas bandas.
2925-2850	C-H	Los C-H del metileno (R=CH ₂) resuenan por esas bandas.
2890	C-H	Los C-H fuera de un metino (R=CH-R) resuenan por esas bandas.
1700-1615	C=N	Efectos de conjugación similares al C=O)
1640-1560	Vibraciones de flexión del enlace N-H	En el caso de las primarias se encontrarán bandas con una intensidad chica a mediana en esta longitud.
1580-1490	Vibraciones de flexión del enlace N-H	En el caso de las secundarias se encontrarán bandas con una intensidad ancha en esta longitud.
1470	C-H	Los C-H del metileno (R=CH ₂) resuenan por esas bandas.
1460 -1380	C-H	Son característicos del estiramiento y la torsión de enlaces del tipo C—H de radicales metilos (-CH ₃)
1260-1000	C-O	Esta banda del estiramiento C-O se puede deber por el etanol. Los primarios se pueden encontrar por los 1050±10, los secundarios alrededor de 1100 y los terciarios 1150-1200 cm^{-1}
900~650	N-H	En el caso de las primarias y secundarias se encontrarán bandas con una intensidad mediana ancha en esta longitud.

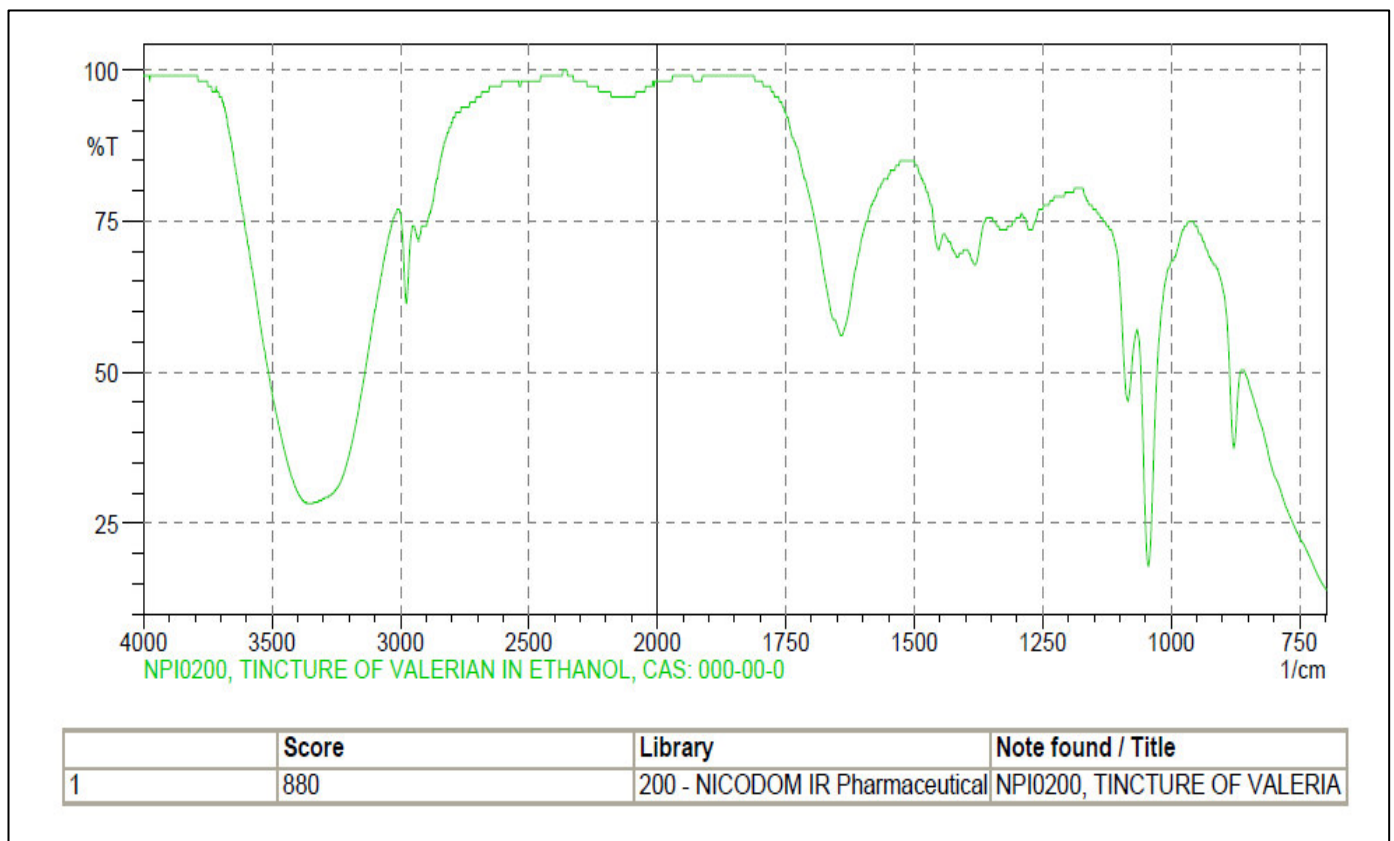


Figura 36. Espectro IR de la tintura de valeriana.

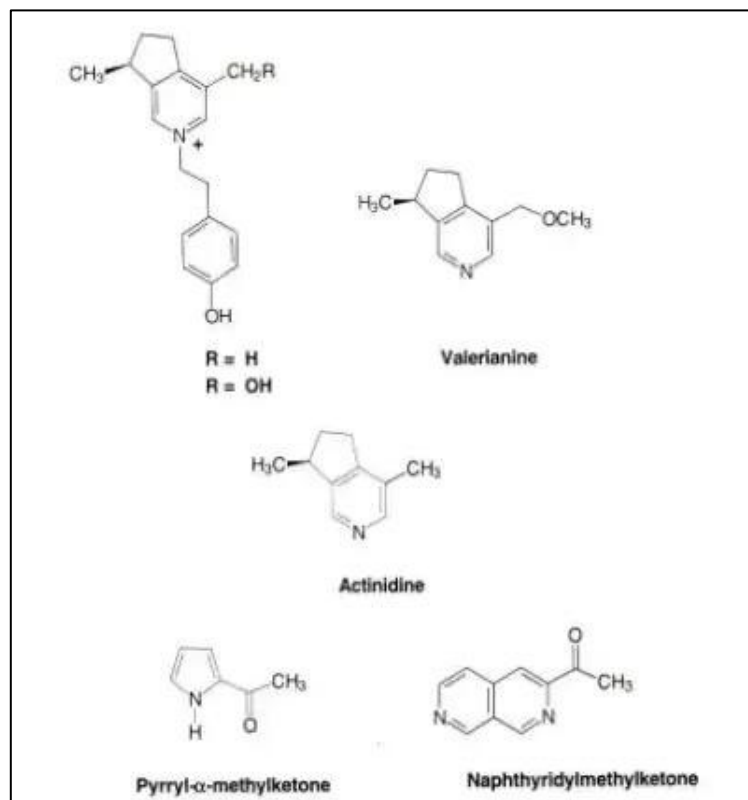


Figura 37. Alcaloides de la tintura de valeriana

4.5.1.3 Análisis instrumental de espectroscopia de RMN de protón (^1H -RMN) y de carbono 13 (^{13}C -RMN).

a. Espectroscopia de RMN de protón (^1H -RMN)

En el estudio estructural de nuestro compuesto $R_{f1}=0.97$ se le realizó RMN- ^1H utilizando como solvente el MeOH-d^4 con frecuencia de 400 MHz se reporta en el espectro (ver anexo 3) señales $\delta=6.5$ ppm, $\delta=6.8$ ppm y $\delta=7.8$ ppm característicos de protones de un aromático y $\delta=1.38$ ppm señales de grupo metilo, realizando una comparación con el espectro teórico del pirrol-3carbamida y 2-acetilpirrol notaremos que los desplazamiento reportados, los cuales se presentan en la tabla 9, son bastante cercanos al experimental.

Tabla 9. Cuadro comparativo de datos experimentales y teóricos de ^1H -RMN para R_{f1}

Datos de desplazamiento $\delta^1\text{H}$ (ppm)			
Ubicación del protón en la estructura (ver figura 38)	Datos experimentales del R_{f1}	Datos teóricos del pirrol-3carbamida	Datos teóricos del 2-acetilpirrol
11	7.8	7.4	7.06
9	6.8	6.8	6.927
10	6.5	6.4	6.257
7	1.38	-	2.4

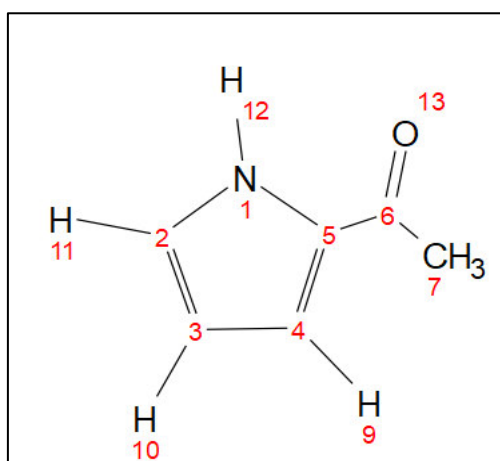


Figura 38. 2-acetilpirrol alcaloide encontrado en la tintura de valeriana

b. Espectroscopia de RMN de ^{13}C (^{13}C -RMN)

En el espectro de ^{13}C -RMN se observaron señales entre $\delta=128.10$ a 124.99 ppm que pertenecen a los carbonos de los anillos aromáticos y las señales ubicadas en los $\delta= 80.15$ a 71.15 ppm, posiblemente pertenezcan a carbonos más apantallados. Señales $\delta=16.13$ ppm es característico de carbonos primarios (ver anexo 4). Se realizó una comparación con una estructura del 2-acetilpirrol y se detectó señales muy cercanas.

Tabla 10. Cuadro comparativo de datos teóricos y experimentales de ^{13}C -RMN para Rf_1

Datos de desplazamiento $\delta^{13}\text{C}$ (ppm)			
Ubicación del Carbón en la estructura (ver figura 38)	Datos experimentales	Datos teóricos del 2-acetilpirrol	Datos teóricos de una estructura base pirrol
5	128.10	132.46	118.5
2	124.99	125.58	108.2
4	80.15	117.51	-
3	71.15	110.48	-
7	16.13	25.43	-

4.5.2 Elucidación estructural del compuesto $\text{Rf}_2=0.86$

4.5.2.1 Espectroscopía UV-VIS

El espectro UV-VIS del compuesto $\text{Rf}_2=0.86$ extraída de la cromatografía preparativa, es un sólido transparente. Se realizó un barrido de 190 nm a 450 nm, obteniéndose longitudes máximas en etanol (figura 39) de 226 y 260 nm, realizando una comparación con el espectro teórico reportados para las bencilisoquinoleinas y bis-bencilisoquinoleinas notaremos que son bastante cercanas a las longitudes teóricas (figura 40), que presentan máximos de absorción hacia 225 y 280 nm mínimo entre 250 y 260 nm. (Gabriel A. 2008)

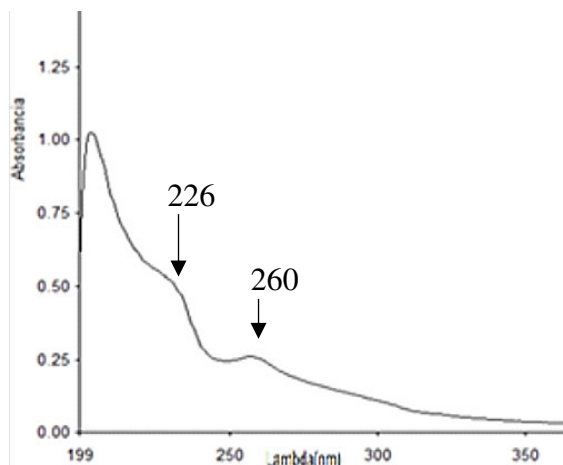


Figura 39. Espectro UV-Vis experimental de la muestra $R_f = 0.86$

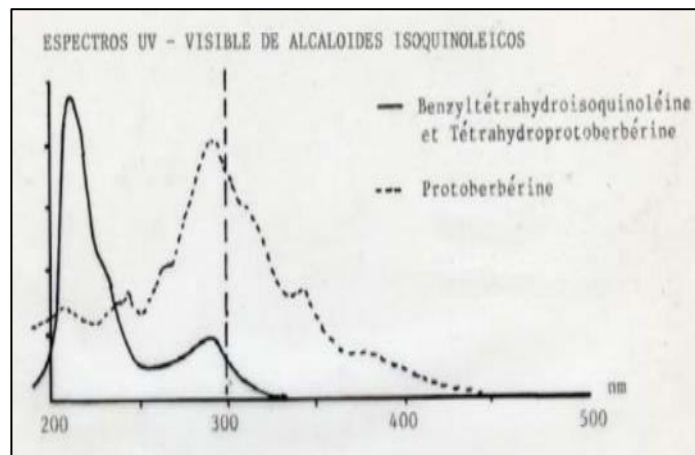


Figura 40. Espectro UV-Vis teórico de la Tetrahydroprotoberberina y benciltetrahydroisoquinoleina

4.5.2.2 Espectroscopía infrarroja

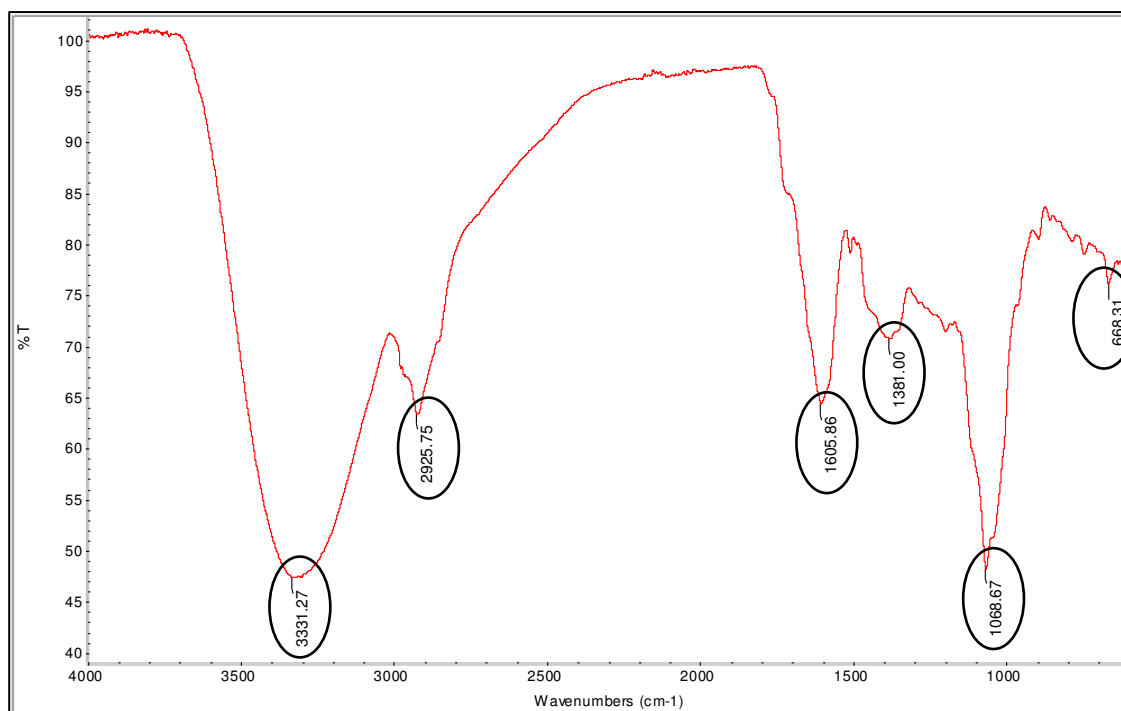


Figura 41. Espectro IR del compuesto $R_{f2} = 0.86$

Al analizar el espectro de la muestra R_{f2} , se observa la presencia de una banda de tensión O-H a los 3300.71 cm^{-1} , el valor de esa banda puede ser por el disolvente utilizado etanol, que

puede superponerse a otras bandas como las de N-H de las aminas primarias o secundarias, para las bandas que se encuentran por los 2925 a 2850 cm^{-1} estas bandas son características de vibración de tensión del C-H de radicales del metileno, en la banda de 1640 a 1560 cm^{-1} nos puede indicar la posible presencia de vibraciones de flexión del enlace N-H, 1460 a 1380 cm^{-1} son característicos del estiramiento y la torsión de enlaces del tipo C-H de radicales metilos (-CH₃), se puede observar la presencia de la tensión C-O por la banda 1068.61 cm^{-1} y un pico característico en la zona de la huella dactilar que posiblemente sea una vibraciones de flexión N-H en aminas primarias y secundaria.

Tabla 11. Bandas de absorción y estructuras orgánicas del espectro IR de la muestra Rf₂

Bandas cm^{-1}	Grupo funcional	Observaciones
3331.27	O-H	Una banda de vibración de tensión O-H que posiblemente sea del etanol o de algún O-H enlazado a la molécula.
3500-3300	N-H	Si fuera una amina primaria R-NH ₂ se notarían 2 bandas. No se descarta la presencia por la superposición de la banda del O-H.
3350-3310	N-H	En el caso sea una amina secundaria R-NH-R /Ar-NH-R, solo aparecerá una banda, no se descarta la presencia por la superposición de la banda del O-H.
2925-2850	C-H	Los C-H del metileno (R=CH ₂) resuenan por esas bandas.
1640-1560	Vibración de flexión del enlace N-H	En el caso de las primarias y secundarias se encontrarán bandas con una intensidad chica a mediana-ancha en esta longitud.
1460 -1380	C-H	Son característicos del estiramiento y la torsión de enlaces del tipo C—H de radicales metilos (-CH ₃)
1068.61	C-O	Esta banda del estiramiento C-O se puede deber por el etanol. Los primarios se pueden encontrar por los 1050±10, los secundarios alrededor de 1100 y los terciarios 1150-1200 cm^{-1}
900-650	N-H	En el caso de las primarias y secundarias se encontrarán bandas con una intensidad mediana ancha en esta longitud.

4.5.2.3 Análisis instrumental de espectroscopia de RMN de protón (^1H -RMN) y de carbono 13 (^{13}C -RMN) y bidimensional (HSQC, HMBC de la muestra $\text{Rf}_2=0.86$)

a. Espectroscopia de RMN de protón (^1H -RMN)

En el estudio estructural de nuestro compuesto $\text{Rf}_2=0.86$ se le realizó RMN- ^1H utilizando como solvente el MeOH-d^4 y una frecuencia de 400 MHz, en donde se aprecian 11 señales (figura 42). Los protones que absorben en campos bajos como $\delta=7.71\text{ppm}$ (dd, $J=5.7, 3.3\text{ Hz}$, ^3H) y $\delta=7.62\text{ ppm}$ (dd, $J=5.7, 3.3\text{ Hz}$, ^3H) se destaca por los dobles dobles correspondiente a un grupo aromático. La señal $\delta=6.667\text{ ppm}$ (m, ^1H) un singlete que integra 1 hidrogeno correspondiente al grupo aromático de la posible molécula, señal $\delta=5.019\text{ ppm}$ (m, ^1H), $\delta=4.59\text{ ppm}$ (s, ^1H), se destaca los dobles $\delta=4.21\text{ ppm}$ (dd, $J=5.7, 2.1\text{ Hz}$, ^6H), $\delta=3.82\text{ ppm}$ (s, ^1H), $\delta=3.31\text{ ppm}$ (m, ^3H), estos resultados se compararon con valores teóricos y simulados en MestReNova (ver tabla 12).

^1H -RMN (400 MHz, metanol- d^4)

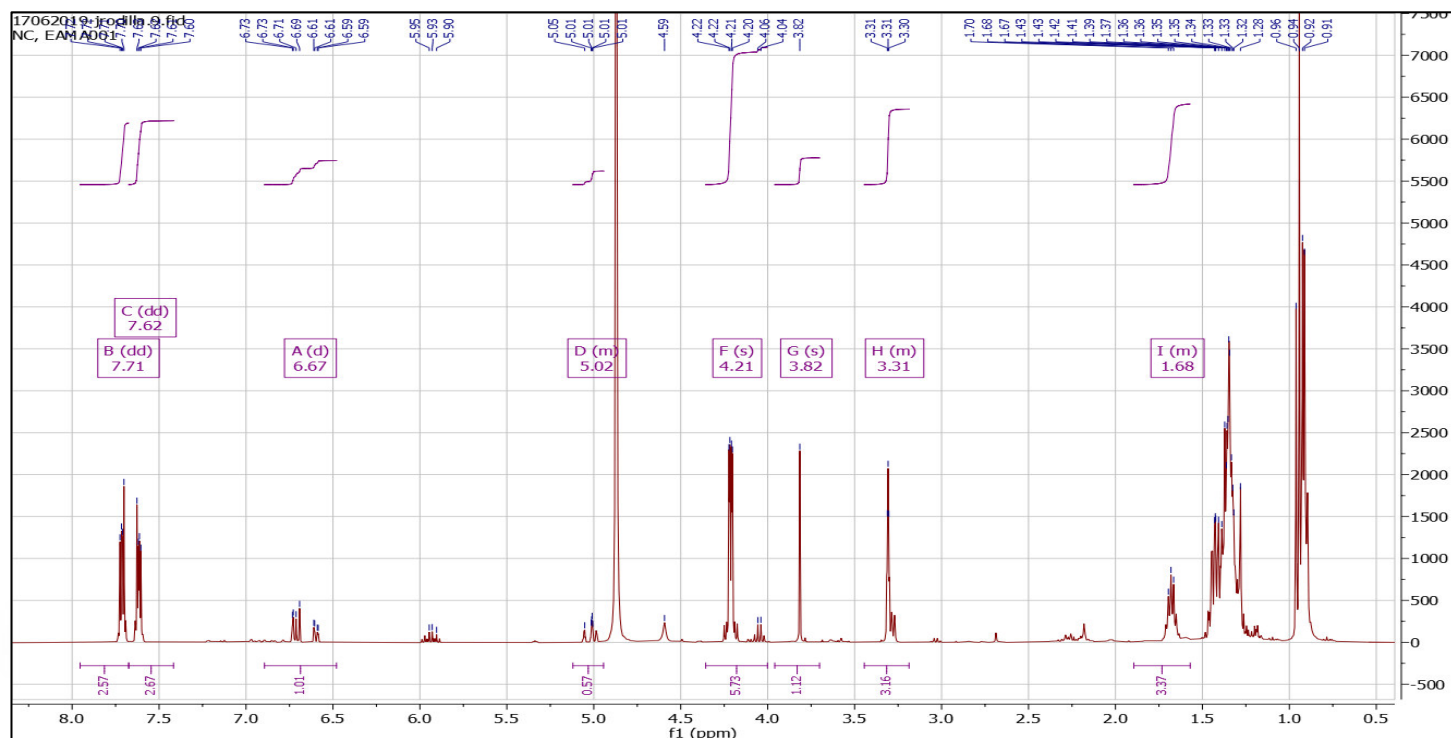


Figura 42. Espectro de RMN ^1H de compuesto $\text{Rf}_2 = 0.86$

Tabla 12. Cuadro comparativo de datos teóricos, experimentales y simulados en MestReNova, para $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, metanol- d_4)

Datos de desplazamiento $\delta^1\text{H(ppm)}$					
Datos experimentales del Rf_2		Datos teóricos de Bis-Bencilisoquinolinico Antioquina (ver figura 43)		Datos simulados de un Bis-Bencilisoquinolinico Taligrisina (ver figura 44)	
$\delta^1\text{H(ppm)}$	Multiplicidad, J (Hz)	Ubicación del protón	$\delta^1\text{H(ppm)}$ y Multiplicidad, J (Hz)	Ubicación del protón	$\delta^1\text{H(ppm)}$ y Multiplicidad, J (Hz)
7.71	dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz	H-25, H-27	7.26 (dd)	H-27, H-25	7.17 (dd, $J = 6.4, 4.4$ Hz)
7.62	dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz	H-24	6.96 (dd)	H-28, H-24	7.09 (dd, $J = 5.6, 4.6$ Hz)
6.67	m	H-17	6.85	H-16	6.84 (m)
5.02	m	H-12	4.67 (m)	H-11	5.10, 4.80 (m)
4.21	s	H-46, H-20	3.95 (OMe-) (s)	H-45, H-20	3.79(OMe-) (s)
3.82 (OMe-)	s	H-30	3.87 (OMe-) (s)	H-30	3.90 (OMe-) (s)
3.31	m	H-32	3.25, 2.78 (m)	H-31	3.11, 2.89 (m)

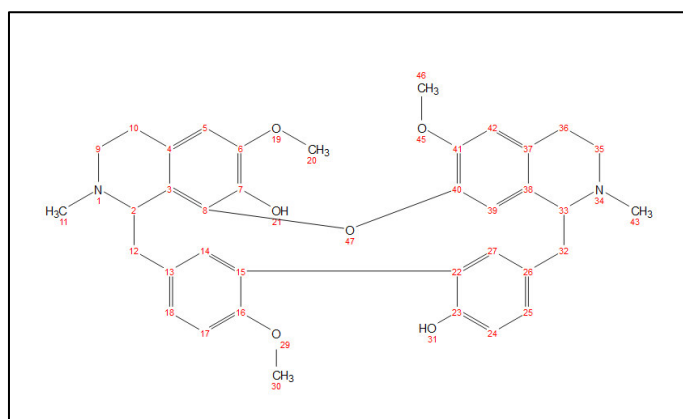


Figura 43. Antioquina

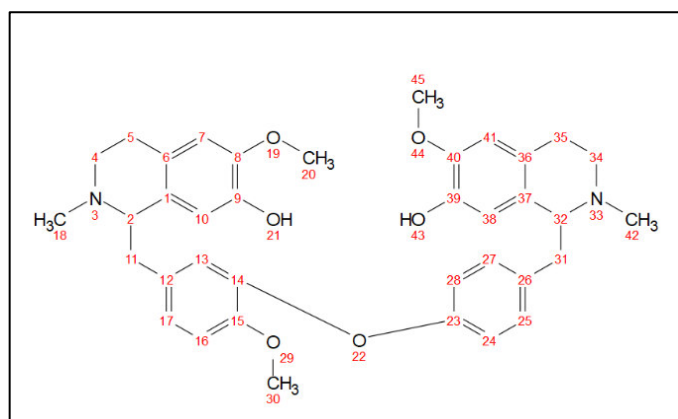


Figura 44. Taligrisina

b. Espectroscopia de RMN de carbono 13 ($^{13}\text{C-RMN}$)

Se observaron 19 señales, en campo bajo se encontró la señal a $\delta=167.92$ ppm que corresponde al carbono carbonilo o $\delta=67.56$ y 54.92 del grupo metoxi, las señales $\delta=132.19$, 147.47 , 144.36 , 131.45 y 128.46 ppm son de los carbonos cuaternarios de los anillos bencénicos algunos de ellos enlazados a átomos de oxígeno. Para las señales $\delta= 131$, 120.57 , 114.70 y 111.83 ppm son carbonos metinos que se encuentran ubicados en los anillos bencénicos. Hacia campo

alto el desplazamiento químico $\delta=39.40$ es un carbono secundario de la unión de los grupos aromáticos y 38.78 pertenece al carbono N-Me. Los $\delta=29.37$ y 28.74 ppm pertenece a carbono secundarios unidos al heterociclo de una bisbenciltetrahidroisoquinoleinas. La señal a $\delta=13.01$ y 10.02 ppm es característica de carbonos primarios que se encuentran apantallados, a diferencia de la señal $\delta=54.92$ ppm que corresponde a un carbono primario desapantallado por la presencia de un átomo electronegativo (O-Me), por ello el mayor desplazamiento y un menor campo como se muestran en las figuras 45, 46 y 47. Se realizó una comparación con valores teóricos y simulados en MestReNova de las bis-bencilisoquinolinico como se muestra en la tabla 13.

^{13}C , 1DEPT-135: Se observa señales en fase positiva CH, CH_3 y señales en fase negativa correspondiente a los CH_2

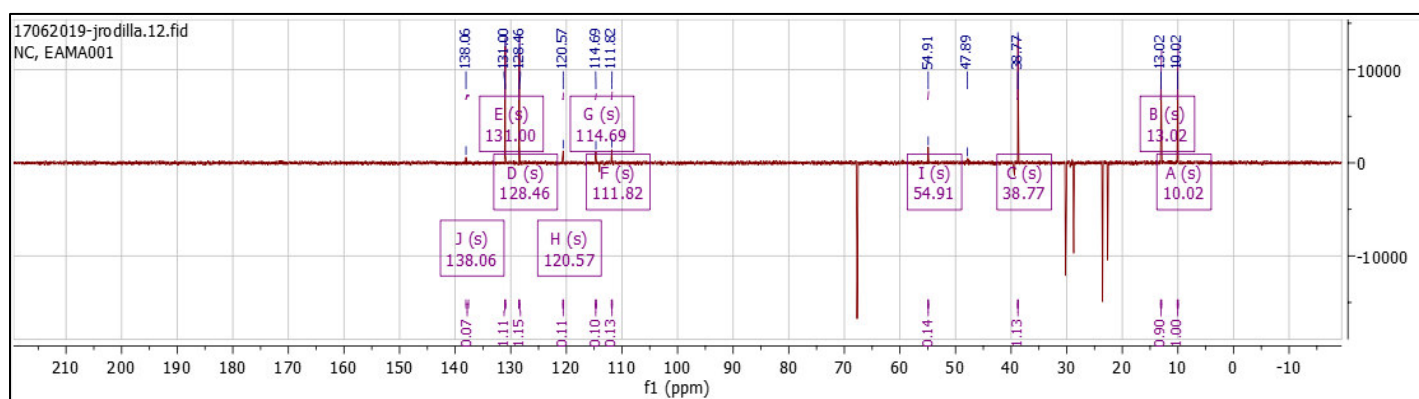


Figura 45. Espectro ^{13}C , DEPT-135

^{13}C , 1DEPT-90: Se observa señales en fase positiva correspondiente a los CH

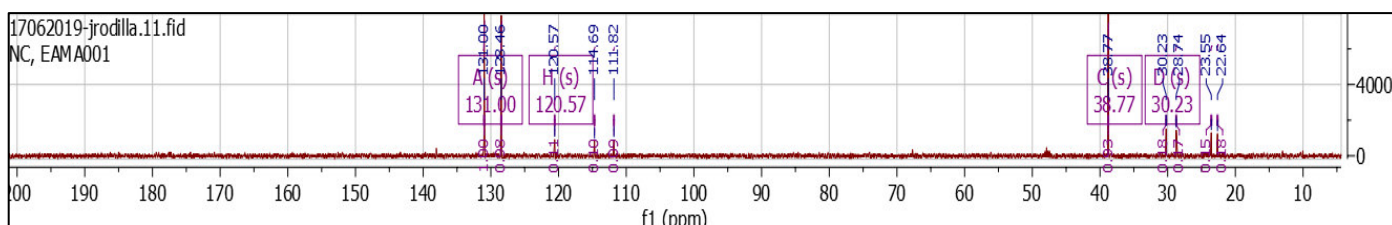


Figura 46. Espectro ^{13}C , DEPT-90

^{13}C RMN (100 MHz, Metanol-d4): Se observa todas las señales de la fase positiva y negativa del compuesto correspondientes a los C, CH, CH_2 y CH_3 .

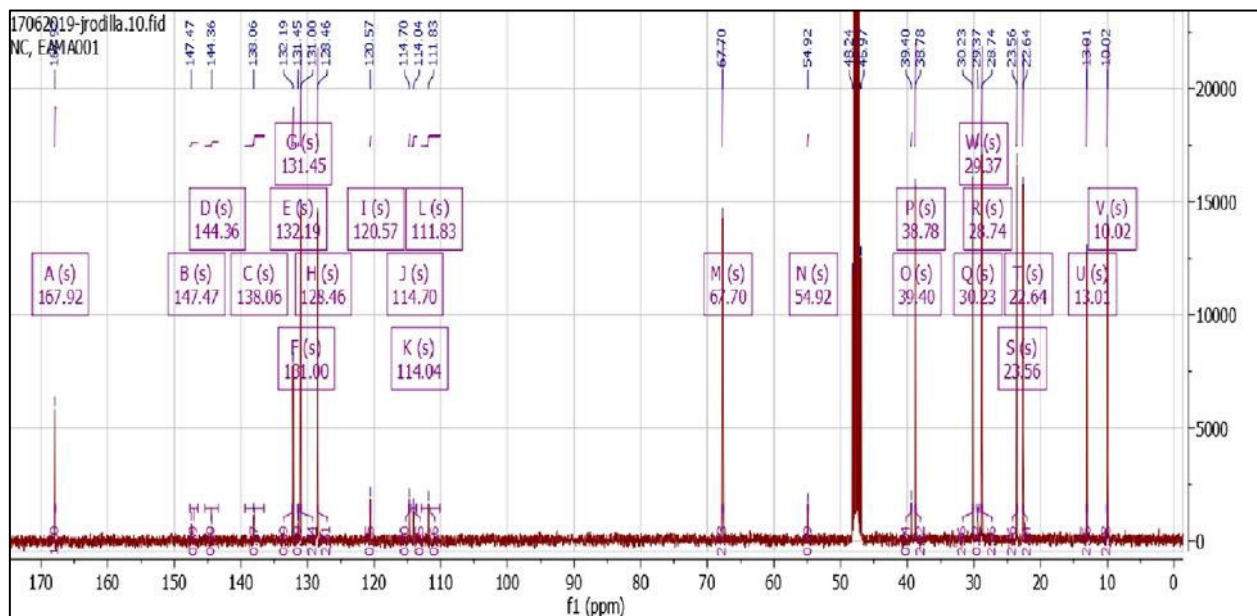


Figura 47. Espectro RMN- ^{13}C del compuesto $Rf_2=0.86$

Tabla 13. Datos de RMN-¹³C del compuesto Rf₂=0.86: Comparación entre los resultados experimentales y datos simulados en el programa de MestReNova de compuestos bis-bencilisoquinolinico.

Datos de desplazamiento $\delta^{13}\text{C}(\text{ppm})$				
Datos experimentales del Rf ₂	Datos teóricos Antioquina (ver figura 43)		Datos simulados Taligrisina (ver figura 44)	
$\delta^{13}\text{C}(\text{ppm})$	Asignación C	$\delta^{13}\text{C}(\text{ppm})$	Asignación C	$\delta^{13}\text{C}(\text{ppm})$
167.92	C-23	153.4	C-23	155.07
	C-16	152.9	C-15	148.18
147.47	C-41	148.2	C-40	146.60
	C-6	145.7	C-8	146.52
144.36	C-40	142.6	C-39	144.12
	C-7	134.4	C-9	144.04
132.19	C-28	130.3	C-26	133.88
131.45	C-13	137.8	C-12	132.49
131	C-25 C-27	135.3	C-25 C-27	131.13
128.46	C-38	129.8	C-37	128.77
	C-3	123.9	C-1	127.91
120.57	C-24	121.9	C-24 C-28	121.50
114.70	C-39	119.1	C-38	113.44
	C-8	119.1	C-10	113.35
111.83	C-17	110.7	C-16	112.47
54.92	OCH ₃ .C-30	56.3	OCH ₃ .C-30	56.09
67.56	OCH ₃ .C-20 C-46	55.8	OCH ₃ .C-20 C-45.	56.06
38.78	NCH ₃ .C-43	43.6	NCH ₃ .C-42	42.45
38.78	NCH ₃ .C-11	42.3	NCH ₃ .C-18	42.43
39.40	C-32	39.8	C-31	39.79
39.40	C-12	38.8	C-11	39.44
23.56	C-36	27.4	C-35	25.87
22.64	C-10	22.4	C-5	25.79

c. Espectro bidimensional HSQC (Heteronuclear single quantum correlation spectroscopy) y HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)

Se realizaron análisis bidimensionales HSQC y HMBC. En la figura 48 se analizó los protones que se encuentran unidos directamente al núcleo de carbono, en este espectro podemos observar 7 señales véase tabla 14: las señales a δ^{1H} (ppm)=7.71 y δ (ppm)=7.62 correlaciona con los carbonos C-25, C-27 y C-28, C-24 del anillo aromático del bencil, δ^{1H} (ppm) =3.82 y δ^{1H} (ppm)=4.21 correlaciona el carbono del metoxi C-30, C-45 y C-20, δ^{1H} (ppm)=6.72 correlaciona con el carbón del anillo de la isoquinolina C-38 y C-10. δ^{1H} (ppm)=3.31 correlaciona el carbón de la unión de la isoquinolina con el becil C-31 y C-11 de la molécula.

En la figura 49 se obtuvieron señales que nos representan δ^{1H} (ppm) de protón que está a 2 o 3 enlaces del carbono, se corroboró en estos espectros las asignaciones de los protones y carbonos, los δ^{1H} (ppm)=7.71 se encuentran a 3 enlaces de los carbonos C-23, C-15 y C-26, δ^{1H} (ppm)=3.82 a dos enlaces del C-15, δ^{1H} (ppm)=3.72 a tres enlaces de los carbonos C-40 y C-8 pertenecientes al anillo aromático, δ^{1H} (ppm)=4.10 a 3 enlaces del C-18 del metil.

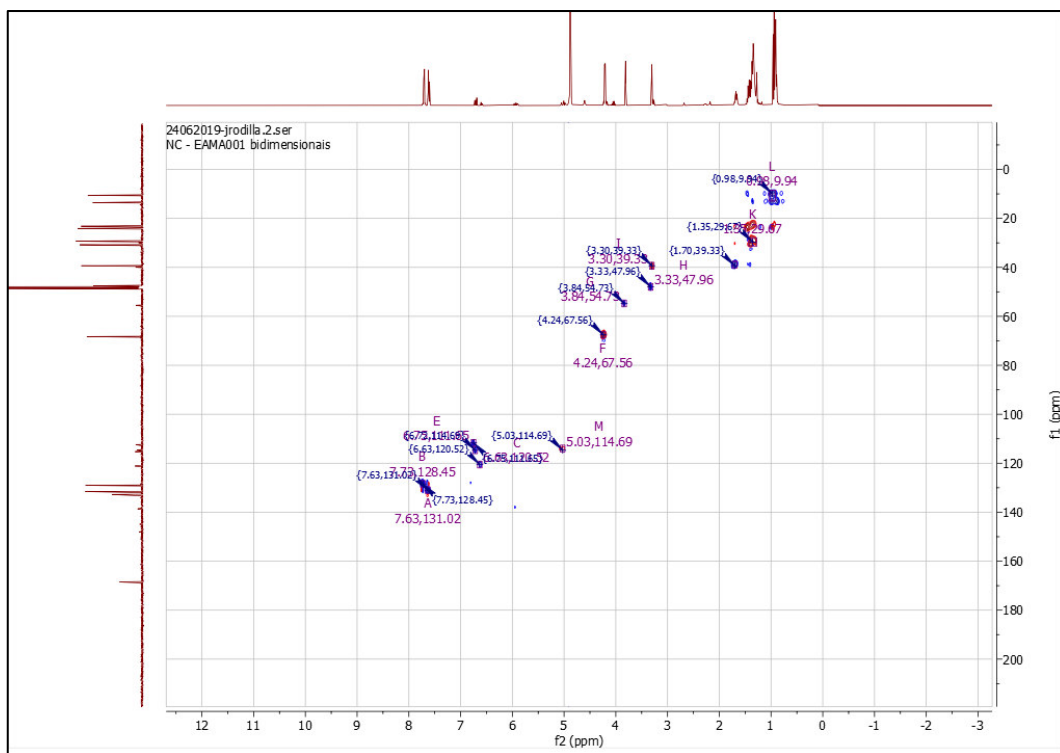


Figura 48. Espectro HSQC

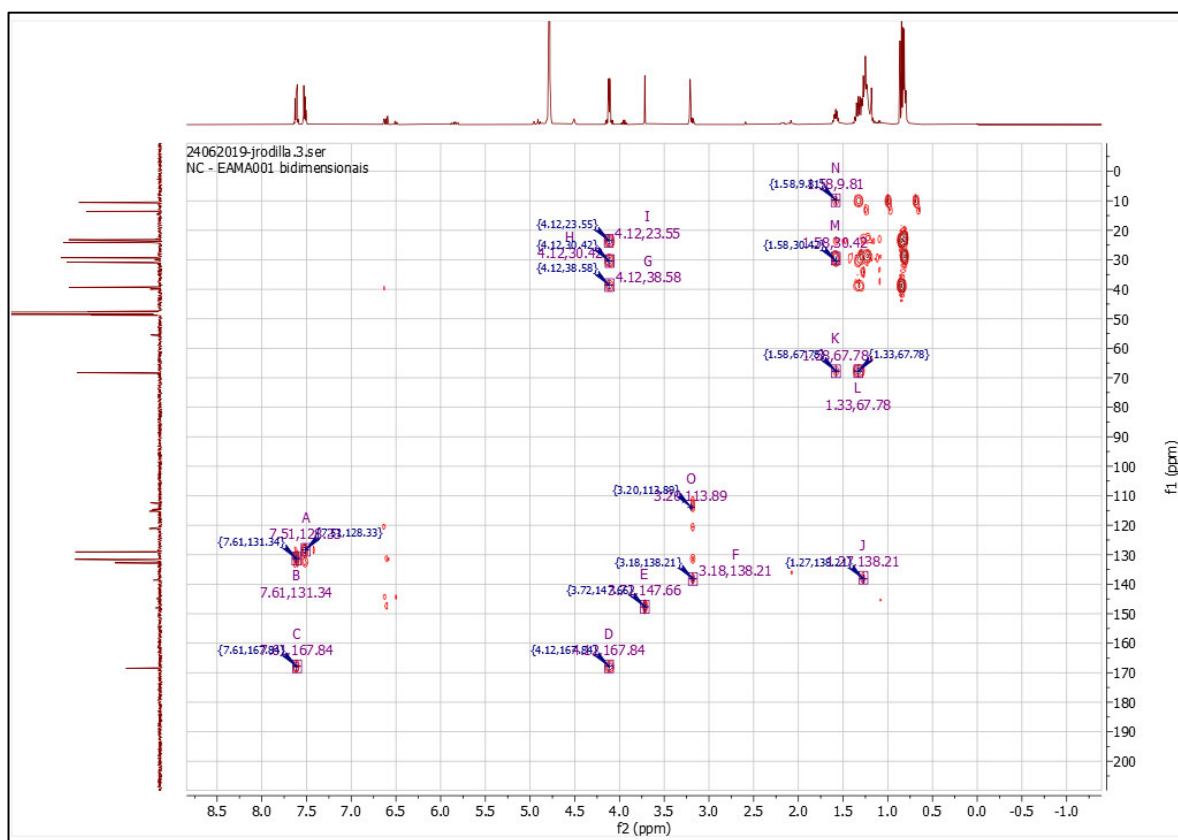


Figura 49. Espectro HMBC

Tabla 14. Datos de RMN bidimensional HSQC y HMQC

Datos experimentales de los análisis bidimensionales						
HSQC			HMBC			
Asignación del carbono directamente conectado al protón	$\delta^{13}\text{C}(\text{ppm})$	$\delta^1\text{H}(\text{ppm})$ Protón directamente conectado al carbono.	Asignación del carbono. a 2 o 3 enlaces.	$\delta^{13}\text{C}(\text{ppm})$	$\delta^1\text{H}(\text{ppm})$ Protón está a 2 o 3 enlaces del carbono.	Distancia de los protones a
C-25 C-27	131	7.71	C-23, C-15	167.92	7.71 (H-27, H-25)	3 enlaces
C-28, C-24	128.46	7.62	C-26	132.19	7.71 (H-27, H-25)	2 enlaces
C-30	54.92	3.82	C-15	167.92	3.82 (H-30)	3 enlaces
C-31, C-11	39.40	3.31	C-40. C-8	147.47	3.72 (H-20, H-45)	3 enlaces
C-45, C-20	67.56	4.21	C-26	132.19	3.18 (H-30)	2 enlaces
C-38, C-10	114.70	6.72	C-18	38.78	4.10 (H-2)	3 enlaces
C-16	111.83	6.75	-	-	-	-

d. Análisis instrumental espectrometría de masas de alta resolución (HRMS-Q)

El espectro de MS del alcaloide presenta un pico molecular base de $m/s=758.21$ de baja intensidad y picos importantes de fragmentación de $m/s=694.53$ y $m/s=610.18$ el cual se muestran estructuras propuestas de las fracciones en la figura 50, que concuerdan en casi todos los datos espectroscópicos. La estructura propuesta para el alcaloide Rf_2 ($m/s=758.21$) se da por la adición de grupos hidroxilos en la estructura propuesta para la fracción principal ($m/s=694.53$) del espectro (ver figura 51).

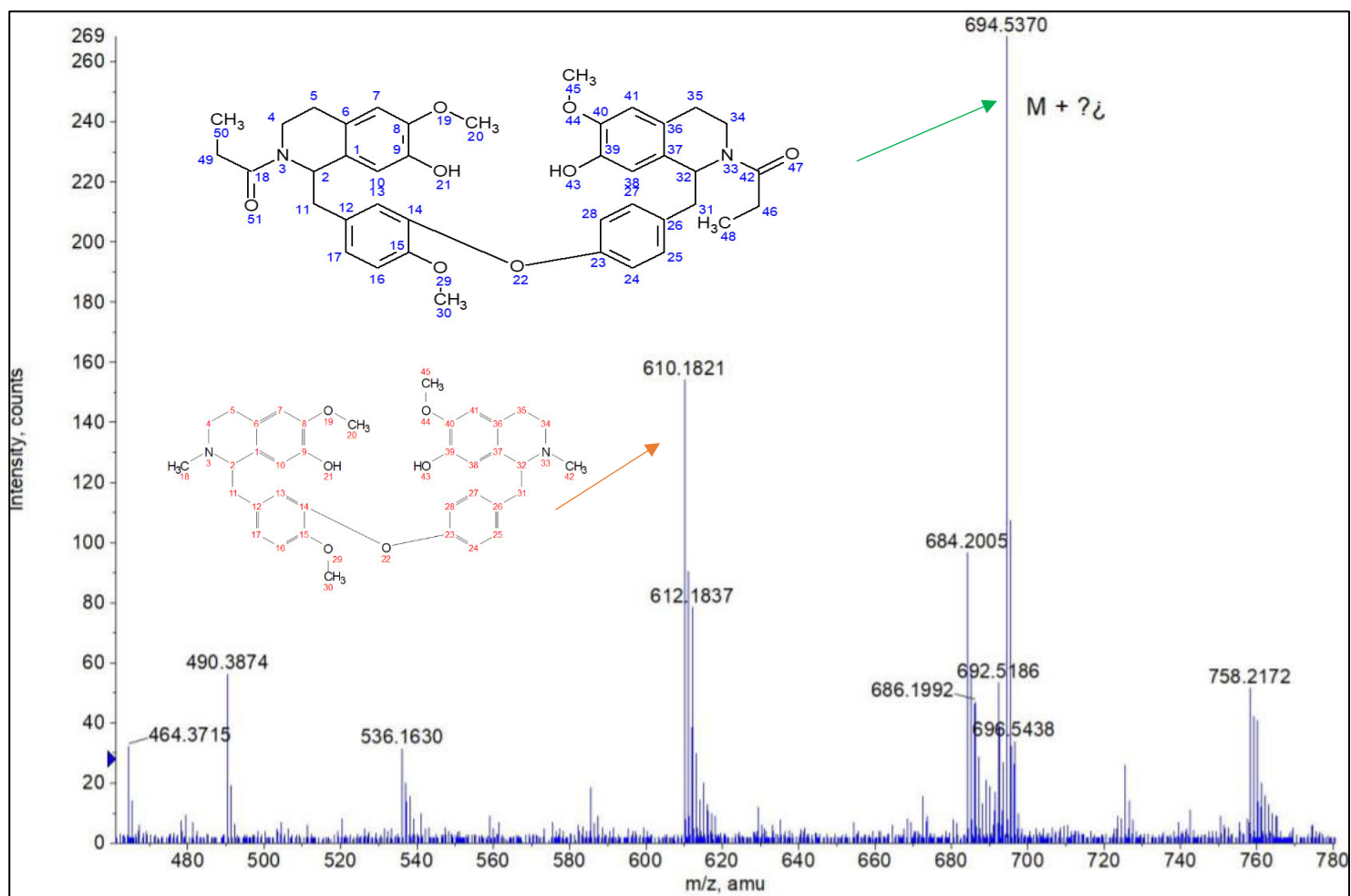


Figura 50. Fraccionamiento obtenido para la molécula propuesta

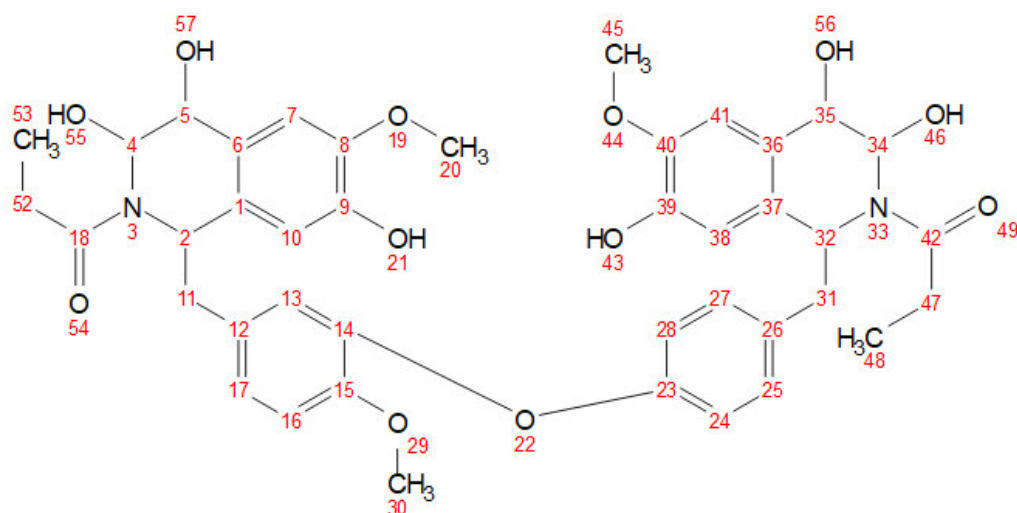


Figura 51. Estructura química propuesta para el compuesto $Rf_2=0.86$. Fuente: Elaboración propia.

4.5.3 Cuantificación de alcaloides totales

De acuerdo con el análisis espectrofotométrico con verde de bromocresol (figura 52), se observa los valores de concentración y absorbancia del extracto hidroalcohólico en la tabla 15. Se realizaron los cálculos correspondientes, obteniendo 175 mgAtropina (AT)/100 g de resina de *Maquira coriácea*, mediante la siguiente ecuación:

$$[]_{\text{metabolito}} = \frac{[]_{\text{lectura}} \times V_t \times f_d}{w} \quad [15]$$

Donde:

- ✓ $[]_{\text{metabolito}}$: Concentración del metabolito (polifenoles, taninos, alcaloides, carbohidratos; expresado en mg/100g de estándar o g/100g de estándar)
- ✓ $[]_{\text{lectura}}$: Concentración de lectura en el equipo (mg/mL)
- ✓ V_t : Volumen total (mL)
- ✓ f_d : Factor dilución
- ✓ W : Peso inicial de muestra (g)

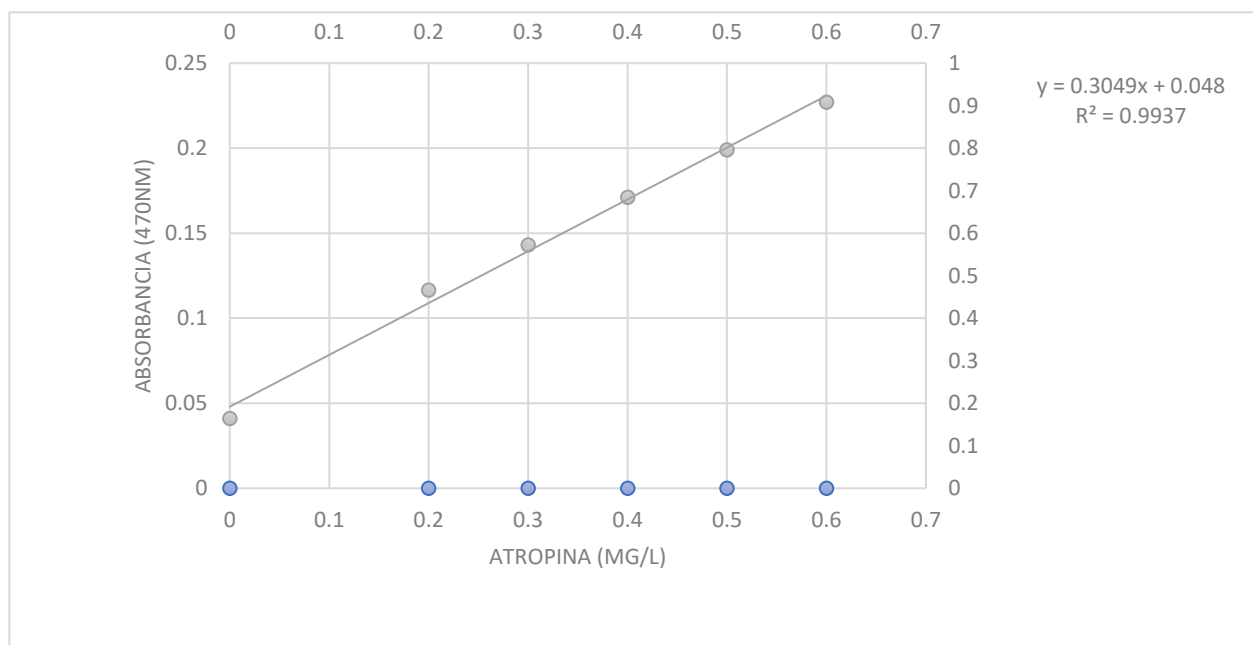


Figura 52. Curva patrón de la atropina a 470 nm

Tabla 15. Datos comparativos de métodos de extracción para la cuantificación de alcaloides totales

Muestras	[mg/L]	Abs (470 nm)
Muestra de extracto hidroalcohólico en frío	0.409	0.174

CAPITULO V: CONCLUSIONES

5.1 Conclusiones

Del trabajo realizado se llegaron a las siguientes conclusiones:

1. La resina es soluble en solventes polares.
2. De la marcha fitoquímica de la resina de la *Maquira Coriacea* se reporta por primera vez la presencia de alcaloides, saponinas, taninos y flavonoides.
3. Los mejores solventes para las extracciones de los metabolitos secundarios de la resina de esta especie son: mezcla hidroalcohólica para alcaloides, hexano para las saponinas, extracto acuso para taninos, extracto etanolico para flavonoides.
4. Se logró aislar 2 alcaloides de la especie *Maquira Coriacea*.
5. Se logró caracterizar químicamente un alcaloide Bisbenciltetrahydroisoquinoleinas con estructura base de la taligrisina.
6. Se logró caracterizar químicamente un alcaloide posiblemente de estructura tipo Pirrol.
7. Se reporta por primera vez un alcaloide tipo bisbenciltetrahydroisoquinoleinas y un alcaloide tipo pirrol de la especie *Maquira coriácea*.
8. La maceración en frio en comparación de la extracción de soxhlet es la más adecuada para las extracciones de los alcaloides de la resina de capinuri.
9. Se reporta la primera cuantificación de los alcaloides totales de la especie *Maquira Coriacea* y se obtuvo 175 mgAtropina (AT)/100 g de resina.
10. La propiedad antiinflamatoria descrita por los pobladores de la localidad de Juancito y La Pedrera (provincia de Loreto) se puede presentar producto de la gran concentración de metabolitos secundarios encontrados en la resina de capinuri.

5.2 Recomendaciones.

1. Para el análisis de espectroscopía infrarroja se recomendaría realizarlo con el Método de disco de bromuro de potasio o cloruro de potasio para poder observar las bandas características del compuesto analizar sin las interferencias de las bandas del solvente que se utilizó (Etanol o Agua).
2. Realizar estudios de los metabolitos secundarios como los flavonoides y demostrar sus propiedades antiinflamatorias descritas por los pobladores de la localidad de Juancito y la pedrera provincia de Loreto
3. Se recomienda realizar espectroscopía de masa y análisis bidimensionales, para concluir con mayor certeza la presencia el compuesto tipo pirrol aislado de la resina .

CAPITULO VI: BIBLIOGRAFÍA

1. Rasgado Bonilla, F.A. (2015) Caracterización fotoquímica de la resina de Liquidámbar styraciflua L. [Tesis de maestría, colegio de posgrado Montecillo, Texcoco, edo. De México] <http://hdl.handle.net/10521/2532>
2. Rasgado-Bonilla F. A., Soto-Hernández R. M., Conde-Martínez V., Vibrans H., & Cibrián-Tovar D. (2016). Variación estacional en la composición química de resinas y aceites esenciales de Liquidambar styraciflua de Hidalgo, México. *Botanical Sciences*, 94(2), 331-344. <https://doi.org/10.17129/botsci.286>
3. Gustav Nebel. (2000) Árbol de la llanura aluvial amazónica *Maquira coriacea* (karsten) c.c. berg: aspectos de ecología y manejo. 11(1-2), 1-25. <https://doi.org/10.24841/fa.v11i1-2.113>
4. Insuasty, Braulio y Argoti, Juan Carlos y Altarejos, Joaquin y Cuenca, Gerardo y Chamorro, Eduardo (2007). Caracterización fisicoquímica preliminar de la resina del mopa-mopa (*elaegia pastoensis* mora), Barniz de pasto. *Scientia Et Technica*, XIII (33), 365-368. [Fecha de Consulta 25 de Marzo de 2019]. ISSN: 0122-1701. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84933105>
5. Rivas Cacsire, Verónica Dolores. (2006). “Extracción de alcaloides a partir de la corteza y hojas de la guanábana”. [Tesis de licenciatura, de Universidad Nacional del Callao, Perú] <http://repositorio.unac.edu.pe/handle/UNAC/3680>
6. Quiroz C., J.A. y M.A. Magaña A. 2015. Resinas naturales de especies vegetales mexicanas: usos actuales y potenciales. *Madera y Bosques* 21(3): 171-183.
7. Lock De Ugaz O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de los Productos Naturales. Universidad Católica del Perú. Lima. 1994, pp. 167-195
8. Ivo Mahelly, S.R. (2004) identificación de familias de metabolitos secundarios en *myrica cerífera*. [Tesis de licenciatura, Guatemala] http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2228.pdf

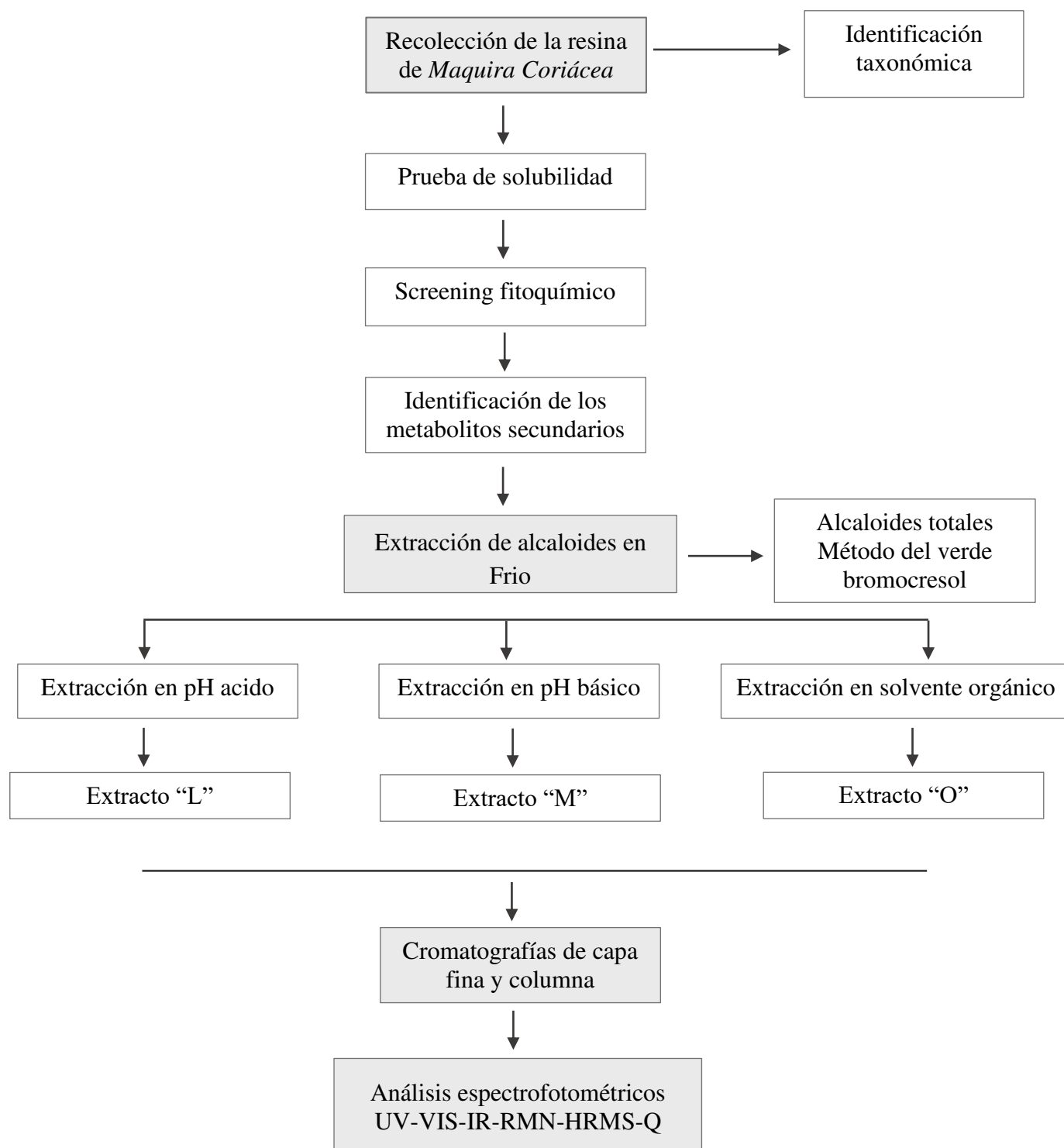
9. Félix M., Álvaro Picar, Miguel Allué-Andrade Camacho. (2004) Diagnóstico y propuestas de actuación en el sector resinero. España.
10. Maria Luisa S.C. Los barnices, capa de protección. (2009.) Significado y composición: resinas, oleorresinas y bálsamos, pp. 2-19.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5162651>
11. Salvador Bergoñón, F. (1994) “Aislamiento y caracterización química de alcaloides del tipo Amaryllidaceae. Producción de Galantamina por cultivos "in vitro" de *Narcissus confusus* [Tesis para optar al grado de Doctor en Farmacia, Universidad de Barcelona, España] <https://www.tesisenred.net/handle/10803/100>
12. S. Sánchez-Herrera & R. M. Soto-Hernández & G. Kite²; M. R García-Mateos (2001) Identificación de alcaloides en las inflorescencias de *Erythrina americana* Miller; Revista Chapingo Serie Horticultura, 7(1): 37-48
13. Vargas Gallego, Juan C. (2011) “Aislamiento e identificación de metabolitos secundarios presentes en hojas de *Wigandia Urens* (hydrophyllaceae)”. [Tesis para optar el título profesional de Químico Industrial, Universidad nacional autónoma de México instituto de química & Universidad tecnológica de Pereira escuela de química, México & Colombia]
14. Santizo Rodas, Ivo M. (2004) “Identificación de familias de metabolitos secundarios en *Myrica Cerifera*”. [Para optar por el título de Químico Biólogo, universidad de San Carlos de Guatemala facultad de ciencias químicas y farmacia, Guatemala]
15. Milan Toledo Nauto (2015) “Estudio fitoquímico, evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de la corteza de “*Triumfetta Semitriloba*” jacq (motecepo) y análisis de parámetros reológicos del mucílago”. [Tesis Para optar al Título Profesional de Químico, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química, Perú]

16. De Astudillo, L & Jaramillo Jaramillo, C & Lemus Barros, M (2015) “Métodos analíticos para la determinación de metabolitos secundarios”; Editorial de la UTMACH, Primera edición 2015. www.utmachala.edu.ec
17. Sandra Blanco, A. (2011) La resinación por el método de pica de corteza ascendiente. Estudio de tiempos, rendimientos y costes en distintos montes de la provincia de Segovia. http://oa.upm.es/7099/2/PFC_SANDRA_BLANCO_ASENSIO.pdf
18. Nakilcioglu, E. & Hisil , Y (2013). Research on the phenolic compounds in sarilop (ficus carica L.) fig variety. GIDA / Te Journal of Food, 38(5)
19. Alston, RE y BL Turner. 1963. Biochemical Systematics. Prentice-Hall, Inc. 404 págs.
20. Fernández Flores, J. (2019) Efecto cicatrizante del gel del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de corteza de Ficus Citrifolia Mill en ratones albinos [Tesis de licenciamiento Químico farmacéutico y bioquímico, Universidad Inca Garcilaso De La Vega, Perú]
21. Universidad Nacional Mayor de San Marcos (14 de junio de 2017) Gobierno Regional de Loreto otorga en concesión tres islas y una quebrada a la UNMSM. Noticias de UNMSM. Recuperado de <http://previous.unmsm.edu.pe/noticias/ver/gobierno-regional-de-loreto-otorga-en-concesion-tres-islas-y-una-quebrada-a-la-unmsm>
22. Productos naturales vegetales / Jorge Abel Ringuelet ... [et.al.]; coordinado por Jorge Abel Ringuelet. - 1a ed. - La Plata: Universidad Nacional de La Plata, 2013. E-Book.
23. Evelyn Karina, A (2018) “Propiedades biocida del alcaloide del chocho en tunales infestados por la cochinilla de escudo en la asociación agroindustrial llanavilla, villa maría del triunfo”. [Tesis para obtener el título profesional de Ingeniera Ambiental, Universidad Cesar Vallejo, Perú]
24. Quispe Ttica, G (2019) Diversidad genética y contenido total de proteínas y alcaloides en semillas de especímenes silvestres de Lupinus de la región Arequipa [Tesis para optar el Título Profesional de Biólogo, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Perú]

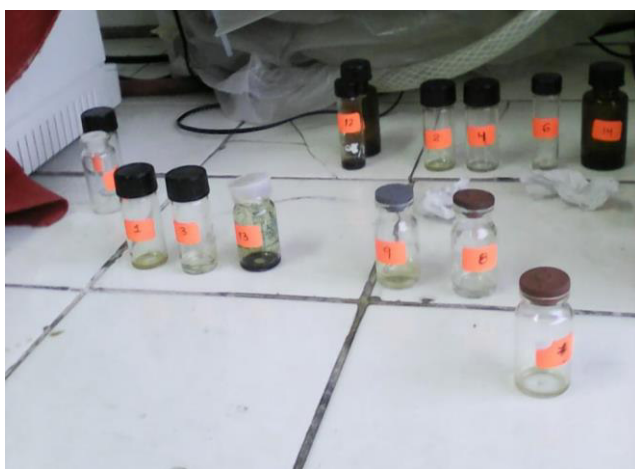
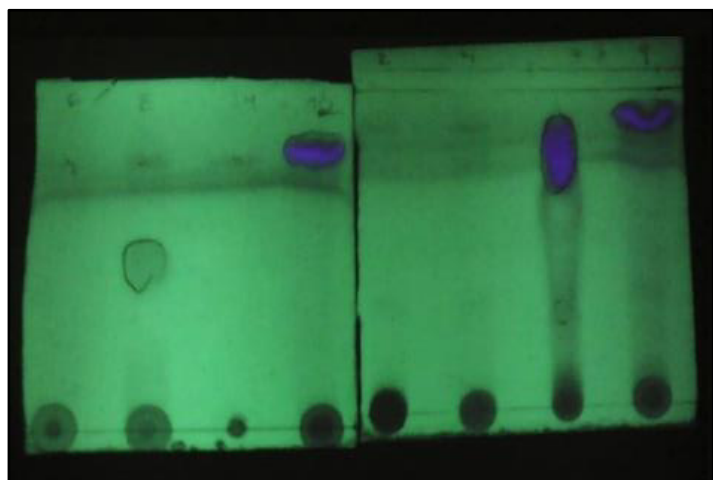
25. Bernal de arenas, M (2019). “Aislamiento del alcaloide Pteropodine 1 por acomplejamiento con la fosfolipasa A2 del extracto de aceite esencial de *Origanum Majoricum* Camb (orégano) y determinación de su actividad biológica”. [Tesis para optar el Grado de Doctora en ciencias y tecnologías medioambientales, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Perú]
26. Aguinaga Risco, C. P. (2015). Principios activos (alcaloides) en las plantas míticas del Perú.
27. Lescano Briones, J. F., & Cubas Medina, J. R. (2014). Identificación y dosaje de flavonoides, taninos y alcaloides en *Acmella Alba* “verbena cimarrona”.
28. Fuertes Ruitón, C. M., Roque Alcarraz, M., & Tristan Vidalón, M. (1998). “Flavonoides y alcaloides de *Lupinus ballianus* C.P. Smith con actividad antibacteriana y antifúngica”
29. Burga Velarde, J. L., & Lara Flores, E. (2016). "Extracción de alcaloides del Huanarpo Macho (*Jatropha macrantha* Muell.Arg) en un equipo SOXHLET con mezcla de solventes ciclohexano etanol".
30. Pinillo Herrero, F (2004) “La resina: Herramienta de conservación de nuestros pinares” <https://www.sdlmedioambiente.com/ficheros/laresina.pdf>
31. Garcia Alvarado, K. (2015) “Caracterización química de los flavonoides presentes en *ficus citrifolia* mil” [Tesis para optar al Título Profesional de Ing. de biotecnología de recursos naturales, Universidad politécnica Salesiana de Quito, Ecuador]
32. Herbert R.B. “The chemistry and Biology of isoquinoline alkaloids” p. 214. Editorial Springer-Verlag. Berlin 1985
33. Software utilizado <https://mestrelab.com>

CAPÍTULO VII: ANEXOS

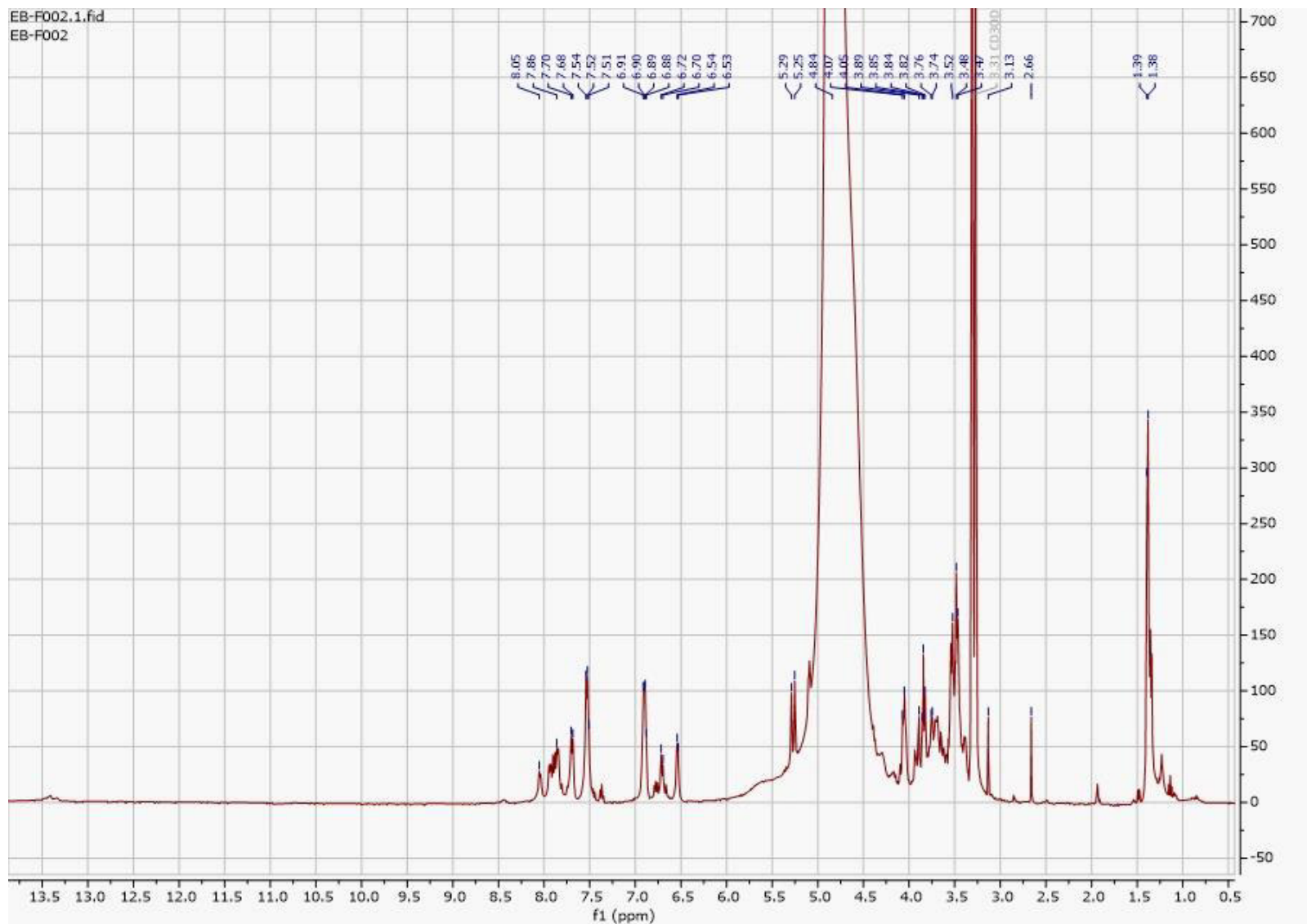
Anexo 1. Diagrama de flujo de la obtención del extracto y de la caracterización química de los alcaloides



Anexo 2. Fotografías de las fracciones obtenidas y vistas en la lampara UV



Anexo 3. Espectro de RMN de protón (^1H -RMN) del alcaloide Rf_1



Anexo 4. Espectro de RMN de carbono 13 (^{13}C -RMN) del alcaloide.

