

**“AÑO DE LA PROMOCIÓN DE LA INDUSTRIA RESPONSABLE Y EL
COMPROMISO CLIMÁTICO”**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS:

**“AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN ESTRUCTURAL DE LOS ALCALOIDES DE
LA CORTEZA DE LA ESPECIE VEGETAL *Aspidosperma camporum*
Müll Arg (Quillobordon) UTILIZADO COMO ANTIMALÁRICO”**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. WELLINGTON JACKSON ARCE NUÑEZ

ASESORES:

Q.F. LUÍS ALBERTO VÍLCHEZ ALCALÁ. Mgr.

Ing. LASTENIA RUÍZ MESÍA. Dra.

CO-ASESORES:

Ing. WILFREDO RUÍZ MESÍA.

Ing. LEONOR ARÉVALO ENCINAS.

IQUITOS – PERÚ

2014

DEDICATORIA

A Dios, por darme la vida y la sabiduría, para saber actuar en los momentos difíciles y por permitirme culminar con éxito mi tesis. Gracias eterno Dios por hacer posible lo que tantas veces te pedí, sin ti no hubiera logrado desarrollar mi trabajo. Gracias por permitirme estudiar en la UNAP, por cuidarme y escucharme siempre las veces que te necesito y sobre todo por darme la fuerza para seguir adelante.

Gracias Papá Jorge y Mamá Fátima por entregar cada día de sus vidas para hacer de mí una persona íntegra que pueda ser útil a la sociedad, todo lo que soy se los debo a ustedes por completo y mis éxitos son el resultado de la conjugación de amor, valores espirituales y éticos que me enseñaron desde que tenía uso de razón. Quiero que sepan que para mí son los mejores. Gracias a todos y cada uno de los que lean y han leído este trabajo porque, por ese simple hecho, ya forman parte de él.

Wellington Jackson Arce Nuñez.

AGRADECIMIENTO

A mi Dios todopoderoso: por su gran misericordia e infinito amor hacia mí, por darme la sabiduría, fortaleza y paciencia.

A mis padres: por su gran paciencia, amor, sacrificio y apoyo en todo momento. Después de Dios ustedes han sido mi apoyo y refugio, gracias de todo corazón por aguantarme, los amo mucho, que Dios me los bendiga siempre.

A la Dra. Lastenia Ruíz Mesía, por su generosidad al brindarme la oportunidad de realizar la tesis pre grado en el Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Amazonía, en su prestigioso laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitarios de la Amazonía, en el área de Fitoquímica. CIRNA - LIPNAA – UNAP.

A la Ing. Leonor Arévalo Encinas por su constante asesoramiento durante el tiempo que me acogió, que con su carisma hace que el alumno aprenda rápido las diferentes técnicas para el desarrollo de mi tesis.

A los Ingenieros: Wilfredo Ruíz, y Jorge Manases por su paciencia brindada y por sus enseñanzas que de alguna manera me sirve de mucho en lo moral como en lo profesional.

Al Instituto Universitario de Bio-orgánica de la Universidad de la Laguna en la persona de Matias Reina Artilles, por permitir el uso de los equipos de los equipos de RMN, ¹³C y ¹H, espectrómetro de masa entre otros para la toma de los espectros.

A los profesionales: Elder Marreros, Enrique López, Ericka Cotrina, Rosa Perea, Jean Pierre López, y otros que me dieron ánimo y sufrimos penalidades juntos, año tras año, y los que logramos llegar hasta el final, vemos que valió la pena superar todas las peripecias.

A todos mil gracias

Wellington Jackson Arce Nuñez.

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN ESTRUCTURAL DE LOS ALCALOIDES DE
LA CORTEZA DE LA ESPECIE VEGETAL *Aspidosperma camporum* Müll Arg
(*Quillobordon*) UTILIZADO COMO ANTIMALÁRICO**

Arce Nuñez, Wellington Jackson

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene por objetivo, aislar e identificar los alcaloides de la corteza de *Aspidosperma camporum* Müll Arg (*Quillobordon*) (Apocynaceae), especie vegetal que se utiliza tradicionalmente como antimalárico en la Amazonía Peruana.

El estudio se realizó en la Unidad Especializada: Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitarios de la Amazonía " Gabriel de la Fuente Martín" LIPNAA del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Amazonía (CIRNA- UNAP), en lo referente a la extracción, fraccionamiento cromatográfico, purificación y aislamiento de los alcaloides y en el Instituto de Agrobiología de Canarias del Consejo Superior de Investigación Científico de Tenerife (España) se realizaron, la toma de los espectros de RMN, espectrometría de masas de alta y baja resolución, los experimentos, bidimensionales de coherencia cuántica homonuclear, los cuales permitieron determinar las estructuras químicas de los alcaloides aislados.

La corteza de *Aspidosperma camporum* (4.4 Kg), se maceró con etanol a temperatura ambiente por un periodo de 60 días, con renovación de solvente cada 72 horas, el etanol se eliminó a presión reducida en un rotavapor hasta sequedad, se pesó y se obtuvo 102.4 g de extracto etanólico.

A partir del extracto etanólico se obtuvo el extracto alcaloidal en medio básico (13.8 g)

Utilizando técnicas cromatográficas de columna, cromatografía de capa fina, cromatografía preparativa se aislaron tres alcaloides. La estructura química se determinó por la interpretación de sus datos espectroscópicos (RMN¹H y ¹³C, HSQC y HMBC) y datos espectrométricos y por comparación con los datos publicados en la bibliografía química, los cuales fueron identificados como: **10-Metoxi desacetilakuammilina, Aspidolimidina y Flenderina.**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF STRUCTURAL ALKALOIDS BARK
PLANT SPECIES *Aspidosperma camporum* Müll Arg (Quillobordon) USED AS
ANTIMALARIAL**

Arce Nuñez, Wellington Jackson.

ABSTRACT

This research aims to isolate and identify alkaloids from the bark of *Aspidosperma camporum* Müll Arg (Quillobordon) (Apocynaceae), plant species traditionally used as an antimalarial in the Peruvian Amazon.

The study was conducted at the Specialized Unit: Laboratory of Natural Products Research parasitic Amazon "Gabriel de la Fuente Martin " LIPNAA Research Center of Natural Resources in the Amazon (CIRNA- UNAP) , in terms of extraction, chromatographic purification and isolation of alkaloids and the Institute of Agrobiology Canary Superior Scientific Research Council of Tenerife (Spain) fractionation was performed , taking NMR spectra , mass spectrometry high and low resolution experiments , two-dimensional homonuclear quantum coherence , which allowed to determine the chemical structures of the isolated

Camporum *Aspidosperma* bark (4.4 Kg) , macerated with ethanol at room temperature for a period of 60 days, with renewal of solvent every 72 hours , the ethanol under reduced on a rotary evaporator to dryness , pressure was removed and weighed was obtained 102.4 g of ethanol extract .

From the alkaloidal extract ethanol extract was obtained in basic medium (13.8 g)

Column chromatographic procedures, thin layer chromatography, preparative chromatography were isolated three alkaloids. The chemical structure was determined by the interpretation of spectroscopic data (^1H NMR and ^{13}C , HSQC and HMBC) and spectrometric data and by comparison with the data published in the chemical literature, which were identified as 10 - Methoxy desacetilakuammilina, *Aspidolimidina* and *Flenderina*.

ÍNDICE GENERAL

	Págs.
CAPITULO I	
1. INTRODUCCIÓN	11
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
1.2. OBJETIVOS	14
1.2.1. Objetivos Generales.....	14
1.2.2. Objetivos Específicos.....	14
CAPITULO II	
2.0.MARCO TEÓRICO	16
2.1. Antecedentes	16
2.2. Malaria.....	19
2.3. Alcaloides.....	19
2.4. Funciones y usos.....	20
2.5. Alcaloides derivados del triptófano.....	21
2.6. Alcaloides Indólicos.....	22
2.7. Distribución de los Alcaloides Indólicos.....	23
2.8. Acción Farmacológica.....	24
2.9. Métodos de extracción de Alcaloides.....	24
2.9.1. Extracción con Ácido diluído.....	25
2.9.2. Métodos de separación y purificación.....	25
2.9.3. Métodos cromatográficos.....	25
2.9.3.1. Cromatografía de columna (CC).....	26
2.9.3.2. Cromatografía de capa fina o delgada (CCF).....	26
2.9.3.3. Cromatografía de partición.....	26
2.9.3.4. Cromatografía de adsorción.....	26
2.9.3.5. Cromatografía Líquida.....	27
2.9.3.6. Cromatografía Líquida en columna, CL.....	27
2.9.3.7. Cromatografía de alta resolución o Performance HPLC, CLAR.....	27
2.9.3.8. Cromatografía de Gases GG.....	27
2.9.3.9. Cromatografía de exclusión.....	28

2.9.4. Métodos Físicoquímicos.....	28
2.9.4.1. Cristalización Fraccionada.....	28
2.9.4.2. Métodos espectroscópicos para la determinación estructural de compuestos orgánicos.....	28
2.9.5. Métodos Espectroscópicos.....	28
2.9.5.1. Espectroscopía Ultravioleta (UV).....	28
2.9.5.2. Espectroscopía Infrarroja (IR).....	29
2.9.5.3. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RNM).....	29
2.9.6. Método Espectrométrico.....	30
2.9.6.1. Espectrometría de Masa (EM).....	30
2.10. Familia Apocynaceae.....	30
2.11. Genero Aspidosperma.....	31
2.12. Distribución del Genero Aspidosperma.....	32
2.13. Distribución y Hábitat.....	33
2.14. Usos más Importantes.....	33
2.15. Clasificación y descripción botánica de la especie.....	33
2.16. Clasificación Taxonómica.....	34
2.17. Descripción Botánica de la especie.....	34
2.18. Usos.....	34
2.19. DEFINICIONES OPERACIONALES.....	35
2.19.1. Variable Independiente.....	35
2.19.2. Variable Dependiente.....	35
2.20. HIPÓTESIS.....	35

CAPITULO III

3.0.METODOLOGÍA Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	
3.1. Tipo de estudio.....	37
3.2. Diseño de la Investigación.....	37
3.3. Tratamiento de Datos.....	37
3.4. Población y Muestra.....	37
3.4.1. Población vegetal.....	37
3.4.2. Muestra vegetal.....	37
3.5. Criterios de selección de la muestra.....	37
3.5.1. Criterios de inclusión.....	37

3.5.2. Criterios de exclusión.....	37
3.6. Materiales y Reactivos.....	38
3.6.1. Equipos.....	38
3.6.2. Instrumentos (Colaboración - Instituto Universitario de Bio Orgánica).....	38
3.6.3. Material de Laboratorio.....	38
3.6.4. Insumos Químicos.....	38
3.7. Técnicas Instrumentales y Equipos.....	39
3.7.1. Técnicas Cromatográficas.....	39
3.7.1.1. Cromatografía de Columna (CC).....	39
3.7.1.2. Cromatografía de capa fina (CCF).....	39
3.7.1.3. Cromatografía preparativa.....	40
3.8. Resonancia Magnética Nuclear (RNM).....	40
3.9. Espectrometría de Masa (EM).....	40
3.10. Espectroscopía Infrarroja (IR).....	40
3.11. Actividad Óptica.....	41
3.12. Procedimiento Experimental de Recolección de Datos.....	41

CAPITULO IV

4.0. RESULTADOS	47
4.1. Alcaloide 10 – Metoxidesacetilakummilina.....	47
4.2. Alcaloide Aspidolimidina.....	48
4.3. Alcaloide Flenderina.....	49
4.4. Discusión de los Resultados.....	50
4.4.1. Alcaloide10 – Metoxidesacetilakummilina.....	50
4.4.2. Alcaloide Aspidolimidina.....	52
4.4.3. Alcaloide Flenderina.....	53
4.5. CONCLUSIONES	57
4.6. RECOMENDACIONES	58
4.7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
ANEXOS	67
ANEXO N° 01. Procesamiento de la muestra.....	68
ANEXO N° 02. Marcha Alcaloidal.....	69
ANEXO N° 03. Espectro de IR de ¹ H 10 –Metoxidesacetilakuamilina.....	70

ANEXO N° 04. Espectro de EM de ^1H 10 –Metoxidesacetilakuamilina.....	70
ANEXO N° 05. Espectro RMN de ^1H 10 –Metoxidesacetilakuamilina.....	71
ANEXO N° 06. Espectro RMN de ^{13}C de 10- Metoxidesacetilakuamilina.....	71
ANEXO N° 07. HSQC 10 – Metoxidesacetilakuamilina.....	72
ANEXO N° 08. HMBC 10- Metoxidesacetilakuamilina.....	72
ANEXO N° 09. Espectro de IR de Aspidolimidina.....	73
ANEXO N° 10. Espectro de EM de Aspidolimidina.....	73
ANEXO N° 11. Espectro RMN de ^1H de Aspidolimidina.....	74
ANEXO N° 12. Espectro RMN de ^{13}C de Aspidolimidina.....	74
ANEXO N° 13. Espectro de IR de Flenderina.....	75
ANEXO N° 14. Espectro de EM de Flenderina.....	75
ANEXO N° 15. Espectro RMN de ^1H de Flenderina.....	76
ANEXO N° 16. . Espectro RMN de ^{13}C de Flenderina.....	76
ANEXO N° 17. HSQC de Flenderina.....	77

LISTA DE FIGURAS

Figura N°

01. Alcaloides Indólicos.....	22
02. Distribución de los Alcaloides Indólicos.....	24
03. Fraccionamiento de masas del Alcaloide 10 – Metoxidesacetilakummilina...	51
04. Fraccionamiento de masas del Alcaloide Aspidolimidina.....	53
05. Espectro de RMN de ^1H del alcaloide Aspidolimidina.....	55
06. Espectro de RMN de ^1H del alcaloide Flenderina.....	55

LISTA DE DIAGRAMAS

Diagrama de flujo N°

01. Extracción de Alcaloides de la corteza de <i>Aspidosperma camporum</i>	44
02. Fraccionamiento, Aislamiento y Purificación de la corteza de <i>Aspidosperma Camporum</i> del extracto alcaloidal básico.....	45

LISTA DE TABLAS

Tabla N°

01. Distribución del genero <i>Aspidosperma</i> en el Perú.....	32
02. ^1H , ^{13}C , HSQC, de Aspidolimidina y Flenderina.....	56

ABREVIATURAS

CC	: Cromatografía de columna
CCF	: Cromatografía de capa delgada o fina
dd	: Doble doblete
ddq	: Doble de Doble Cuadruplete
ddd	: Doble de doble Doblete
EM	: Espectroscopía de masa
HMBC	: Coherencia cuántica Heteronuclear (a más de 1 enlace)
HSQC	: Coherencia cuántica Heteronuclear (a un enlace)
Hx	: Hexano
IR	: Espectroscopía Infrarroja
J	: Constante de Acoplamiento
LPN	: Laboratorio de Productos Naturales
Me	: Metilo
M ⁺	: Ion Molecular
M	: Molaridad
MeOH	: Metanol
OAcEt	: Acetato de Etilo
OAc	: Acetato
OMe	: Metoxilo
Pf	: Punto de Fusión
RMN ¹ H	: Resonancia Magnética Nuclear de Protón
RMN ¹³ C	: Resonancia Magnética Nuclear de Carbono
S	: Singulete
Sat	: Saturada
d	: Doblete
t	: Triplete
q	: cuarteto
PTLC_	: Fracción Obtenida por cromatografía preparativa

CAPITULO I

1.0. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han sido empleadas para aliviar los males de la humanidad desde tiempos remotos. El conocimiento empírico acerca de las plantas medicinales y sus efectos curativos se acumuló durante milenios y posteriormente pasó a ser parte integral de sistemas y tradiciones curativas. En décadas recientes la fitoterapia, experimentó un extraordinario resurgir. Hoy en día se reportan numerosos descubrimientos científicos que confirman el enorme potencial curativo que poseen las plantas y que están transformando la fitoterapia en una práctica muy distinta a la de nuestros antepasados.

La selva tropical húmeda de la Región Amazónica, es una de las áreas de biodiversidad más ricas del mundo, y alberga miles de especies vegetales y animales que son utilizados para diferentes fines, entre ellos como: Alimentos, aceites, fibras, combustibles, **perfumes, medicinas, anticonceptivos, alucinógenos, estimulantes**, etc.

El Perú es un país que posee una extraordinaria riqueza biológica, fuente natural de moléculas bioactivas; la diversidad vegetal llega aproximadamente a unas 50,000 especies detectadas, mientras que el continente europeo posee unas 12,000 especies. Por lo que es posible maximizar el aprovechamiento sostenible de nuestros recursos naturales, validándolos científica y tecnológicamente.¹⁰

En los últimos años la región amazónica se ve amenazado por una terrible enfermedad producido por el vector (*Anopheles*), enfermedad de origen Africano que llegó a América a partir de la migración europea; su penetración en la Amazonía fue muy lenta, pero en las últimas décadas, como consecuencia de los nuevos modelos de ocupación basados en la economía extractiva y en la agricultura, a medida que se abrieron las carreteras, tala de los bosques, cambios climáticos se produjo una grave presión sobre los equilibrios ecológicos más antiguos, dando como resultado un incremento en los casos de malaria.

Los antimaláricos actuales, son producto de la investigación extranjera en países donde la malaria fue superada y sus líneas de investigación se dirigen a otros campos.

En este contexto, el descubrimiento de nuevas drogas seguras, eficaces y accesibles se han convertido en una cuestión de prioridad. El estudio de plantas medicinales parece ser la solución más conveniente debido a su accesibilidad y la diversidad

existente en las regiones tropicales. Los estudios planteados, en el presente proyecto, ayudarán a confirmar que la medicina tradicional puede ser una alternativa segura, eficaz y sostenible para el tratamiento de infecciones parasitarias, además ayudará a fortalecer el concepto de la pluriculturalidad, y a rescatar los conocimientos ancestrales de grupos étnicos minoritarios y hacer de la medicina tradicional una herramienta que, debidamente validada, puede ser utilizada en la solución de problemas de salud para enfermedades poco atendidas consideradas como huérfanas de la ciencia, al no ser enfermedades prioritarias en el sistema de salud de los países desarrollados.

La selva amazónica alberga las 2/3 partes de la biodiversidad del mundo encontrándose en el Perú 84 de las 117 zonas de vida del mundo; reportándose 170 especies de uso antimalàrico.³⁰

Los alcaloides, se encuentran en las semillas, raíces, cortezas y hojas; al estado libre o como glucósidos, o formando sales con ácidos orgánicos. Ninguna otra clase de productos naturales posee tal enorme variedad de estructuras. La familia Apocynaceae, constituyen una de las familias de plantas con flor más importantes por su diversidad, distribución y utilidad, la misma ha sido poca estudiada a nivel regional y no existe estudios taxonómicos actualizados de la familia en la zona que permita la identificación segura de los géneros reconocidos actualmente. Estas especies se caracterizan por sintetizar alcaloides del tipo indólicos, oxiindolicos.⁸

En la actualidad, existe un resurgimiento en la investigación de productos naturales por los avances significativos respecto a técnicas de aislamiento, elucidación estructural, determinación de la configuración absoluta y el desarrollo de la biotecnología, la cual mediante cultivo “in vitro” de tejidos y células vegetales, ha permitido en ocasiones obtener un compuesto activo difícil de conseguir en cantidades necesarias directamente de la planta ó por síntesis.

Esta investigación, tiene como objetivo, aislar e identificar los alcaloides a partir de la corteza de *Aspidosperma camporum* “Quillobordon”, utilizando técnicas espectroscópicas, espectrométricas, además mediante técnicas modernas de RMN de correlación homonuclear (HSQC, HMBC).

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Es posible aislar e identificar los alcaloides de la corteza de *Aspidosperma camporum* (Quillobordon) utilizado como antimalárico?

1.2. OBJETIVOS.

1. 2. 1. General:

- ❖ Aislar e Identificar los alcaloides de la corteza de *Aspidosperma camporum*. (*Quillobordon*)

1. 2. 2. Específicos:

- ❖ Preparar el extracto etanólico de la corteza de *Aspidosperma Camporum*. (*Quillobordon*) por maceración.
- ❖ Obtener los extractos alcaloidales a partir de los extractos etanólicos de *Aspidosperma Camporum* (*Quillobordon*).
- ❖ Aislar y purificar los alcaloides de la corteza de *Aspidosperma Camporum* (*Quillobordon*) utilizando diferentes técnicas cromatográficas.
- ❖ Determinar la estructura química de los compuestos aislados, utilizando técnicas espectroscópicas de (IR), (EM), (RMN ^1H) y (^{13}C)

CAPITULO

II

2.0. MARCO TEÓRICO.

2.1. Antecedentes

J. Organic Chemistry. (1988), Las composiciones farmacéuticas que contienen los alcaloides indólicos, son útiles en el tratamiento de la artritis reumatoide, la osteoartritis, la carditis reumática, la enfermedad del colágeno y/o enfermedades autoinmunes tales como la miastenia gravis, enfermedades alérgicas, asma bronquial y enfermedades inflamatorias oculares y cutáneas tales como la urticaria. Las composiciones son útiles también en el tratamiento de las enfermedades proliferativas tales como la psoriasis.³³

Gonzales et al. (2000), realizaron un estudio sobre el uso de plantas medicinales para el tratamiento de malaria en dos distritos de la Provincia de Maynas- Loreto e identificaron 62 especies botánicas.²⁸

DISA Loreto, (2004). Concretamente en Perú la incidencia de malaria es alta, especialmente en la región amazónica, debido a la prevalencia de *Plasmodium*. Por esta razón la Región Loreto está considerada como una zona de muy alto riesgo.²⁰

Ferreira et al, (2004). La diferencia entre el PTLC y el TLC es que, mientras que el último empleado para la separación, identificación y determinación, no permite la recuperación de la muestra, la cromatografía preparativa es un proceso de purificación y permite el aislamiento de las sustancias puras contenidas en una mezcla. Aunque hay muchas técnicas desarrolladas para el aislamiento de productos naturales, PTLC es bastante utilizado, siendo considerado una técnica relativamente simple y de bajo costo para la separación y purificación de pequeñas cantidades de sustancias destinadas a estudios físico-químicos y químicos.²³

Rose Lesieux et al, (2004). Aislaron de la corteza del tallo de *Aspidosperma parvifolium* 04 alcaloides: uleina, epiuleina, apparicina, desmetiluleina, y 02 isoprenoides: lupeol y estigmasterol.⁵⁸

Zocoler et al. (2005), Mediante estudios cualitativos de *Tabernaemontana fuchsiaefolia*, logró la determinación de los principales componentes del género *Aspidosperma* reportando alcaloides indólicos, una clase de sustancias con una amplia

gama de actividades farmacológicas tales como inhibidores de la colinesterasa, analgésico, antiinflamatorio, bactericida, estrogénico, estimulante y depresor del sistema nervioso central (SNC).⁷³

Houghton P. et al. (2006). En la naturaleza están presentes diversos alcaloides indólicos que contienen un grupo hidroxilo en la posición C3, algunos de los cuales han mostrado actividades biológicas interesantes. Considerando que estos compuestos se han aislado de las fuentes naturales en pequeñas cantidades y que muchos productos naturales bioactivos han servido como modelo en la síntesis de compuestos que se utilizan como fármacos, es importante desarrollar o implementar métodos de síntesis que permitan obtener productos naturales o compuestos intermediarios útiles en la síntesis total de productos naturales.⁷¹

Subramaniam G. et al. (2007). Reportaron once nuevos alcaloides del tipo indólico a partir de *Kopsia singaporensis* tales como kopsilosines A-F, 16-epikopsinine, kopsilongine- N- oxide, 16-epiakuummline, aspidophylline A, y vincophylline. Las estructuras de estos alcaloides fueron determinados mediante RMN y Espectrometría de masas.²⁶

Vilma B. Oliveira. et al, (2009).

Aislaron dos nuevos alcaloides indólicos con esqueleto plumerano Spruceanina A y B y ocho alcaloides indólicos conocidos; aspidospermidina, desmetoxipalosina, aspidocarpina, aspidolimina, flenderina, aspidolimidina, obscurinervidina, e obscurinervina, fueron aislados del extracto, tronco y semillas metanólico de la corteza de *Aspidosperma spruceanum*.⁶⁷

Henrique M. et al. (2010); Barbosa et al., 2010). De la corteza de *Aspidosperma vargasii*, aislaron los alcaloides: elipticina y N- metiltetra - hidroelipticina y de *Aspidosperma desmanthum*: aspidoscarpina.³¹

En el Laboratorio de Productos Naturales Antiparasitarios de la Amazonía (LIPNAA) en una investigación reciente se han identificado 62 especies vegetales utilizadas tradicionalmente para los síntomas relacionados con malaria de las cuales Ocho (8)

extractos inhibieron el crecimiento del parásito con $CI_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$ y 14 inhibieron la polimerización de la hemina con $CI_{50} < 10 \text{mg/ml}$.

Ruiz L. et al. (2010). Reportan que los extractos de 9 plantas de 21 ensayadas (*Abuta rufescens*, *Ayapana lanceolata*, *Campsiandra angustifolia*, *Citrus limon*, *Citrus paradise*, *Minquartia guianensis*, *Potalia resinifera*, *Scoparia dulcis*, y *Physalis angulata*) mostraron una interesante actividad antiplasmodial ($IC_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$) y 16 extractos fueron activos por el test de inhibición de la ferriprotoporfirina.⁵⁹

Vincent et al. (2010). Evaluó la actividad de 63 extractos probados por duplicado, encontraron que 14 fueron activos contra *P. falciparum* con $IC_{50} < 40 \mu\text{g / ml}$. El rendimiento obtenido (8 de 14 plantas activas probado) justifica el estudio y confirma la calidad de los conocimientos tradicionales. Cinco especies son particularmente interesantes debido a la selectividad de sus efectos que son *A. rufescens*, *L. aggregatum*, *V. calophylla*, *C. hartwegii* (extractos diclorometano) y *S. villosa* (extracto de hexano). De hecho, el IC_{50} de estos extractos de *Plasmodium falciparum* son entre 4,3 y 10 $\mu\text{g/ml}$ y baja citotoxicidad ($IC_{50} > 35,5 \mu\text{g / ml}$), correspondiente al índice de selectividad superior a 3.3.⁶³

Gonzalez - Colona et al. (2011), En este sentido los alcaloides, un singular grupo de productos naturales, juegan un papel crucial en el desarrollo de una nueva generación de fármacos antiparasitarios que podrían contribuir a combatir enfermedades tropicales endémicas.²⁹

Jons et al. (2011), El objetivo de la investigación fue aislar compuestos antimaláricos a partir de *Annonas quamosa* que se utiliza tradicionalmente en enfermedades como las infecciones asociadas con parásitos de la malaria. N-Nitrosoxylopine (1), Roemerolidine (2) y Duguevaline (3) se aislaron a partir del extracto de la corteza.³⁵

Ruiz L. et al. (2012), Aislaron cinco alcaloides oxindólicos y tres alcaloides de tipo plumerano subtipo haplophitina, fueron aislados de plantas medicinales: *Aspidosperma rigidum* (*Caboxina A Y B*, *Isocaboxina*, *Carapanaubina*, *Isocarapaunabina*.) y *A.*

schultesii (18-Oxo-aspidoalbina, 18-Oxo-O-metilaspidoalbina, haplocidina) y 1 alcaloide del tipo *Aspidospermatano* sub tipo *Tubotaiwina* (11 Hidroxitubotaiwina), también fueron determinada la actividad antiparasitaria de los compuestos frente *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania infantum*.⁵⁹

Pérez N. et. al. (2012). Evaluaron la toxicidad y la actividad anticonceptiva, a partir del extracto acuoso de *Aspidosperma cuspa* (Apocynaceae) para validar su uso popular en adición para identificar los alcaloides indólicos presentes en este extracto.⁴⁷

2.2. MALARIA.

La malaria o paludismo es la infección parasitaria más importante del mundo y está entre los mayores retos en salud y desarrollo de los países pobres. Más de un tercio de la población del mundo (cerca de 2 billones de personas) vive en áreas endémicas de malaria. Se estima que causa 500 millones de casos clínicos y más de 1 millón de muertes cada año, la mitad de ellos en menores de 15 años (2). Cada 30 segundos muere víctima de Malaria un niño en algún lugar.¹⁸

Los países del África Tropical sufren más de 90% del total de casos y de mortalidad. La resistencia del *Plasmodium falciparum* y, más recientemente, del *Plasmodium vivax* a los antimaláricos ha complicado la profilaxis y el tratamiento.²⁹

La malaria es causada por un parásito unicelular del género *Plasmodium*. Cuatro especies infectan al hombre: *Plasmodium vivax*, *falciparum*, *malariae* y *ovale*. A la primera se le atribuyen las formas benignas; la segunda, “maligna”, es responsable de la forma grave y puede ocasionalmente causar la muerte. La tercera es más bien rara en el Perú, y la última no está presente. Casi todas las muertes y una gran proporción de morbilidad son causadas por *Plasmodium falciparum*.²⁹

2.3. ALCALOIDES.

Los alcaloides (de *álcali*, carbonatos de alcalinos, y *-oide*, parecido a, en forma de) son aquellos metabolitos secundarios de las plantas sintetizados, generalmente, a partir de

aminoácidos, que tienen en común su hidrosolubilidad a pH ácido y su solubilidad en solventes orgánicos a pH alcalino.

Hasta la fecha se conocen alrededor de 26900 alcaloides aislados de plantas, hongos, organismos marinos y mamíferos, de los cuales un total de 21120 son derivados de plantas. Se han encontrado 186 familias compuestas por 7231 especies pertenecientes a 1730 géneros (14.2%) que contienen alcaloides, 35 en las que se han detectado alcaloides pero aún no se han aislado, quedando aun 153 familias (aproximadamente 674 géneros y 5835 especies) por estudiar.¹²

Las familias de plantas más importantes que contienen alcaloides son: *Amarillidaceae*, *Annonaceae*, *Asteraceae*, *Berberidaceae*, *Boraaginaceae*, *Buxaceae*, *Celastraceae*, *Fabaceae*, *Lauraceae*, *Liliaceae*, *Loganiaceae*, *Menispermaceae*, *Papaveraceae*, *Piperaceae*, *Poaceae*, *Ranunculaceae*, *Rubiaceae*, *Rutaceae* y *Solanaceae*.^{8,25}

Existen muchos tipos de alcaloides y por ello sus aplicaciones son muy variadas posee especial interés por sus actividades farmacológicas entre ellas podemos mencionar a las drogas antimaláricas de origen vegetal: Quinina, quinidina, cinconidina, hidroquinina, hidrocinconidina, tubolosina, psicotrina, cafaelina, cordobimina, cichonina y cinconina. Así como también podemos citar a las drogas antimaláricas de origen sintético: Cloroquina, amodiaquina, artemisina, halofantrina, mefloquina, pirimetamina, primatamina, clorguanidina, sulfadoxina, etc.^{7,13}

2.4. FUNCIONES Y USOS.

Los alcaloides cumplen diversas funciones en las plantas, como defensas naturales contra animales y hongos, y suelen producir efectos fisiológicos en los animales. La mayoría de plantas medicinales, tóxicas y alucinógenas deben sus efectos a la actividad biológica de los alcaloides. Según la dosis, y la duración del tratamiento, sus usos pueden ser desde analgésicos, anestésicos, curativos o psicotrópicos, hasta producir la muerte (empleados como pesticidas, insecticidas o armas criminales), y/o producir adicciones leves o graves.³

Para clasificar un compuesto como alcaloide es preciso tomar sus cualidades químicas y farmacológicas.

La clasificación de los alcaloides, se dio generalmente por la similitud con estructuras moleculares más simples, otras veces son designados según su origen, género o especie de plantas del cual fueron aislados por primera vez.

Dada la amplitud del tema, nos limitaremos a presentar ejemplos de los alcaloides más comunes en cada uno de los grupos siguiente.

- Alcaloides Pirrolidínicos
- Alcaloides Piridínicos y Piperidínicos
- Alcaloides Isoquinolínicos y Feniletilamínicos
- Alcaloides Morfínicos
- Alcaloides Quinolínicos
- Alcaloides Indólicos
- Alcaloides Imidazólicos
- Alcaloides Quinazolínicos
- Alcaloides Quinilizidínicos
- Alcaloides Pirrolizidínicos
- Alcaloides de la Erythrina
- Alcaloides de la Amaryllidacea
- Alcaloides de Lycopodio
- Alcaloides Esteroidales
- Alcaloides Diterpénicos.

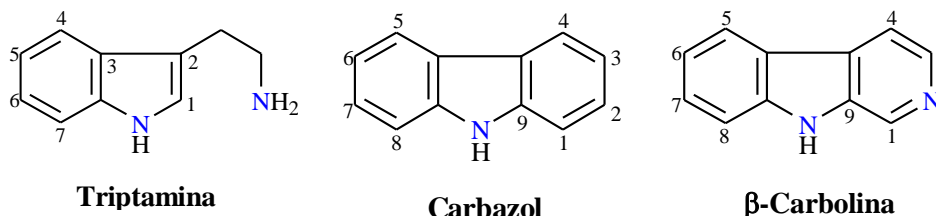
2.5. ALCALOIDES DERIVADOS DEL TRIPTOFANO.

Dentro de los productos naturales, los alcaloides juegan un papel muy importante en el campo de la medicina ya que aproximadamente el 25% de los medicamentos comerciales son alcaloides o análogos de éstos. Se conocen más de 6000 alcaloides naturales que pueden ser clasificados de acuerdo a su estructura química⁵⁸ en:

- Alcaloides heterocíclicos.
- Alcaloides con un átomo de nitrógeno exocíclico.
- Poliaminas.
- Alcaloides peptídicos.
- Alcaloides terpénicos.

2.6. ALCALOIDES INDÓLICOS.

Abarcan una gran variedad y diversidad estructural que va desde simples derivados de la triptamina, carbazoles, β -carbolinas, hasta esqueletos más elaborados que involucran la condensación de triptamina común segundo aminoácido, una molécula de isopreno, policétidos o terpeno.



De todos ellos, el grupo más importante y más extensamente estudiado son los alcaloides indólicos monoterpénicos que derivan biogénicamente de un único precursor construido por condensación del aminoácido triptófano con el monoterpenosecologanina. (M.V. Kisakürec 1982). Kisakürec y Hesse los clasifican en nueve grupos que derivan de los esqueletos fundamentales I (Corinante), II (Aspidospermas) y III (Ibogal) (Fig. 1).

Los grupos vincosano, vallesiacotamano, corinanteano, estrichnano y aspidospermatano adoptan el esqueleto I, los grupos plumerano y eburnano el esqueleto II y el ibogano y tacamano el III (Fig. 1).

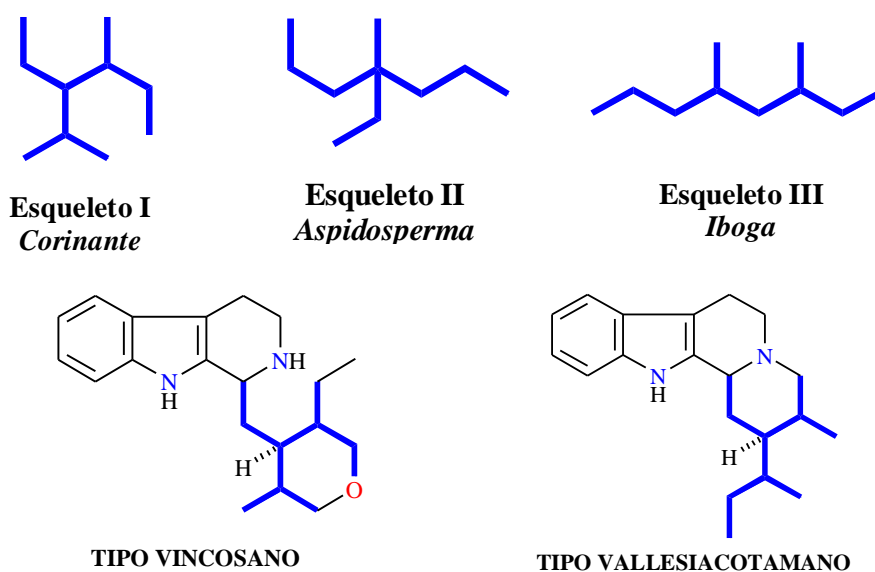


FIGURA 1

2.7 DISTRIBUCIÓN DE LOS ALCALOIDES INDÓLICOS.

Dejando a un lado los alcaloides indólicos simples, los cuales pueden encontrarse en al menos 35 familias de plantas (Philippe, 1985), los de mayor complejidad. los alcaloides monoterpénicos, se encuentran distribuidos casi en su totalidad entre las familias, Apocynaceae, Loganiácea y Rubiáceas, aunque también han sido encontradas en las familias Anonáceae, Euphorbiaceae, Sapotaceae, Alangiaceae e Icacinaceae. (M.V. Kisakürec).

La mayoría de los botánicos dividen la familia Apocinaceae (la más prolífica) en tres subfamilias: Plumerioideade, Cerberoideade y Echitoídeade. Aunque de todas ellas se han aislado alcaloides, solo en la subfamilia es además dividida en siete tribus de las que en solo cuatro, Carisseae, Tabernaemontana, Alstonieae (Plumerieae) y Rauwolfíeae, los alcaloides indólicos están presentes.

Los alcaloides representativos del esqueleto I (Corinante) son los más ampliamente distribuidos habiéndose encontrado abundantemente en los géneros Alstonia, Amsonia, Aspidospermas, Catarantus, Ochrosia, Pleicoarpa, Rauwolfia, Tabernaemontana y Vinca (Apocinaceae), en el género Estríchnos (Loganiaceae) y los géneros Chinchonas Corinante, Mitragina y Uncaria (Rubiáceae). Los alcaloides representativos del esqueleto II (Aspidospermas) están restringidos a los géneros de Apocinaceae, Alstonieae, Kopsia, Pleicoarpa, Stemmadenia, Tabernaemontana y Vinca, y los del esqueleto III (Iboga) se encuentran en los géneros Apocinaceae, Ervatamia, Tabernaemontana, Stemmadenia y Voacanga

Especial mención por su importancia merece el género Rauwolfia (Apocinaceae) que incluye alrededor de 150 especies distribuidas a lo largo de las zonas tropicales y subtropicales del mundo, encontrando su hábitat típico en selvas y sabanas. Los sistemas anulares básicos encontrados son comunes a la mayoría de las especies y están representados por los compuestos yohimbina, Ajmalicina, Sarpagina y Ajmalina. (Manske, 1965) (Fig. 2). Estos alcaloides son también encontrados en otros géneros, la yohimbina es el constituyente principal de la corteza del árbol africano Corinanteyohimbe (Rubiáceae) y también se ha encontrado en los géneros, Amsonia, Vallesia, Aspidosperma y Vinca (Apocinaceae), Gelsenium y Estríennos (Loganiaceae), Corinante, Pausinitalia (Rubiáceae) y Achorrea (Euphorbiaceae). La Ajmalicina se aisló

por primera vez de la *Rauwolfia serpentina*, pero está distribuida en otros géneros como *Vinca* y *Corinante*. Los esqueletos tipo Sarpagina y Ajmalina, representados por los alcaloides del mismo nombre, están ampliamente distribuidos y han sido obtenidos, entre otros, de los géneros *Aspidosperma*, *Catarantus*, *Picalima*, *Rhazia* y *Estriennos*.

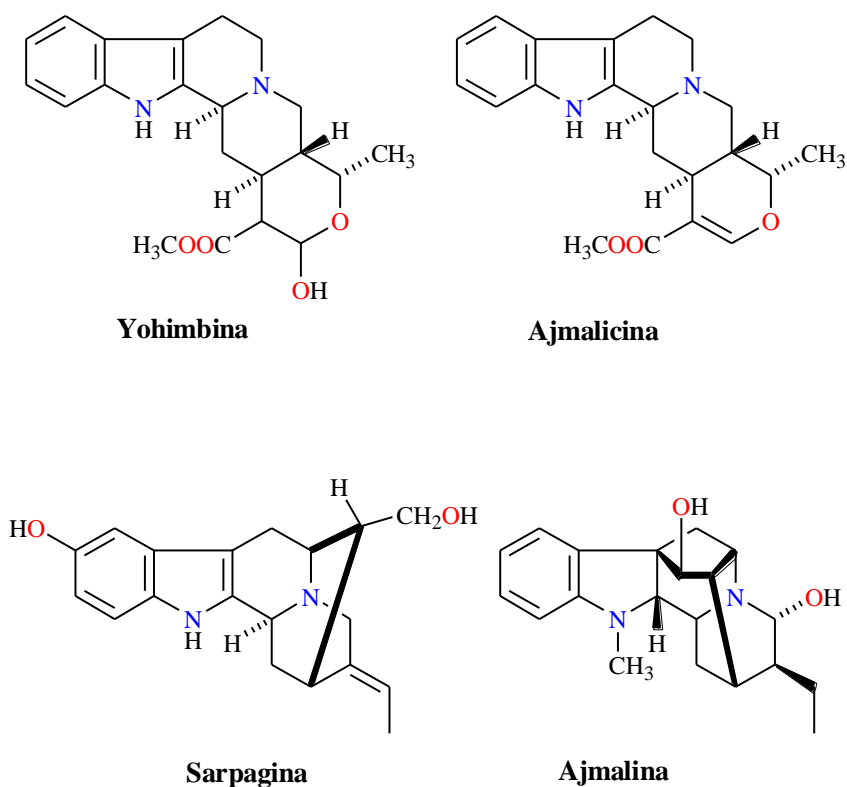


FIGURA 2

2.8. ACCIÓN FARMACOLOGICA.

Los alcaloides son sustancias que suelen tener actividad incluso en dosis muy bajas. Muchos de ellos son sustancias tóxicas, por lo que se deben extremar las precauciones cuando se utilicen terapéuticamente. Hay muchos tipos de alcaloides y por ellos sus aplicaciones son muy variadas posee especial interés por sus actividades farmacológicas.

2.9. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES.

En todo trabajo de investigación sobre productos naturales, es preciso extraer cuidadosamente los compuestos del vegetal.

Dado la importancia de los alcaloides, se han desarrollado diversos métodos para obtenerlos. Lo que nos sorprende es la enorme variedad de estructuras que los caracterizan, el amplio rango de solubilidad y otras propiedades que presentan, sin embargo, en todos ellos se aprovechaban su carácter básico para extraerlo de la planta que lo contiene.

Generalmente se sigue el método que señalamos a continuación.

2.9.1. EXTRACCIÓN CON ÁCIDO DILUÍDO.

Se usa cualquiera de los ácidos (HCl 1N, H₂SO₄ 1N, ácido acético o tartárico al 10%). El extracto es luego alcalinizado con amoníaco, hidróxido de calcio, carbonato de sodio, y así los alcaloides liberados serán extraídos finalmente con solventes orgánicos como cloroformo, dicloro metano, éter etílico, entre otros, obteniéndose así, el llamado “extracto crudo de alcaloide”. En algunos casos ceras y toros metabólicos, se extrae con hexano, posteriormente con etanol. Al extracto etanólico se extrae con ácido diluido a diferentes pH.

La extracción se fundamenta en su carácter básico, por lo que usualmente se utiliza soluciones diluidas de ácidos minerales u orgánicos que los transforman en sales solubles en agua, facilitando su separación del material vegetal, sin mucha interferencia de otros metabolitos.

2.9.2. MÉTODO DE SEPARACIÓN Y PURIFICACIÓN

Entre los métodos conocidos para el aislamiento y purificación de los principios activos o productos naturales, tenemos los métodos cromatográficos y los métodos fisicoquímicos.

2.9.3. MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

Los métodos cromatográficos, consisten en la separación de los componentes de una mezcla debido a la diferente velocidad de elusión a través de una fase estacionaria (un sólido poroso o un líquido retenido en un soporte sólido) cuando la mezcla es transportada por una fase móvil (eluyente: puede ser líquido o gaseoso). El fraccionamiento cromatográfico se realiza con absorbentes que permitan una buena separación y fácil recuperación, siendo el más adecuado la alúmina básica o neutra, pues no forma puentes de enlaces con los alcaloides por tener el carácter básico (los que

tienen más OH y menor ocupado el Nitrógeno). Las principales técnicas cromatográficas utilizadas son:

2.9.3.1. CROMATOGRAFIA EN COLUMNA (CC)

La cromatografía en columna es la más usada en la separación de productos naturales. Con tal finalidad se emplea adsorbentes como sílica gel, alúmina, celulosa, florisol, poliamida, variados sphadex, celulosa intercambiadora de iones y resina de intercambio iónico etc.

Actualmente se usan, mayormente, materiales de relleno que permitan trabajar en fase inversa, como por ejemplo, gel de sílice en fase inversa para la separación de compuestos polares, sobre todo, después del éxito con alúmina básica o ácidos impregnados.²²

2.9.3.2. CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA O DELGADA (CCF).

Donde la fase estacionaria es un sólido poroso dispuesto, formando una capa delgada, sobre una placa metálica, plástica o de vidrio. Una vez que se ha depositado la muestra sobre la placa se coloca verticalmente en un recipiente hermético que tiene el eluyente (fase móvil) en el fondo del recipiente. La fase móvil fluye en sentido ascendente arrastrando los diferentes componentes de la mezcla a velocidades diferentes, con lo que se consigue una separación. Las sustancias que se están deseando pueden controlarse analizando las placas en luz ultravioleta, o utilizando reactivos reveladores específicos para los distintos tipos de sustancias.

2.9.3.3. CROMATOGRAFIA DE PARTICIÓN.

Consiste en la separación de los componentes de una mezcla a base de los coeficientes de partición de cada uno de ellos dos solventes inmiscibles, uno fijo (fase estacionaria) y el otro móvil. La cromatografía de papel equivale a partición y ha sido muy usada, pero en el último decenio ha sido desplazada por métodos cromatográficos más modernos.

2.9.3.4. CROMATOGRAFIA DE ADSORCIÓN.

Esta técnica depende de la adsorción del soluto sobre adsorbente polar, tales como gel de sílice o alúmina. La cromatografía en capa delgada (CCD) es una forma de cromatografía de adsorción.

2.9.3.5. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA.

En la que la fase móvil es un eluyente líquido pudiendo ser la fase estacionaria un sólido poroso o un líquido sobre soporte inerte. La cromatografía líquida puede ser de dos tipos de columna (CL, clásica) y de alta resolución (HPLC, CLAR, moderna).

2.9.3.6. CROMATOGRAFIA LIQUIDA EN COLUMNA, CL.

La elución de los diferentes componentes de la mezcla se realiza por gravedad. La columna se dispone verticalmente y se deposita la muestra en la parte superior y se hace fluir la fase móvil hacia abajo. En el extremo angosto de la columna se van recogiendo las diferentes fracciones. La elución se lleva a cabo hasta que se hayan recogido todos los componentes de la mezcla en las distintas fracciones. Es posible ir variando paulatinamente la composición de la fase móvil hasta que se produce la completa elusión de los componentes.

2.9.3.7. CROMATOGRAFIA DE ALTA RESOLUCION, HPLC, CLAR.

Actualmente se utiliza mucho debido a su elevada sensibilidad, eficacia y rapidez. Consiste en hacer pasar, a mucha presión, la fase móvil (líquida), en la que previamente se ha introducido mediante un sistema de inyección la muestra, por una columna compactamente empaquetada con la fase estacionaria, que también es un líquido retenido sobre un soporte inerte.

2.9.3.8. CROMATOGRAFIA DE GASES (GG).

Es una cromatografía gas-líquido que se aplica a sustancias volátiles o que puedan dar derivados volátiles. La fase estacionaria, que es un líquido retenido sobre un soporte sólido, está dispuesta en una columna. La fase móvil es un gas inerte (gases nobles, nitrógeno, etc.). La columna esta introducida en un horno porque se trabaja a temperaturas elevadas e incluso con gradientes de temperatura, por lo que sólo es aplicable a sustancias termoestables.

El cromatógrafo de gases puede tener diferentes: detector de conductividad térmica, detector de ionización por rayos γ , detector de captura electrónica. La GG puede ir asociada a otras técnicas complementarias como la espectroscopia de masa.

2.9.3.9. CROMATOGRAFIA DE EXCLUSIÓN.

Esta técnica es única en su género, ya que la separación se basa en el tamaño molecular del soluto que pasa a través de un gel que posee una superficie porosa inerte. Las moléculas pequeñas pueden penetrar en los poros y quedar retenidas en ellos, mientras que las moléculas grandes al no poder introducirse en los poros debido a su tamaño, son arrastradas por la fase móvil. La cromatografía de exclusión también se denomina “cromatografía de permeación”. El Sephadex LH-20, entre los diversos tipos, es el de mayor aplicabilidad para la separación de metabolitos secundarios.

2.9.4. MÉTODOS FÍSICO QUÍMICOS.

Los métodos fisicoquímicos, incluyen toda una serie de operaciones como la sedimentación, decantación, centrifugación, filtración, precipitación selectiva, cristalización, etc. Entre ellas podemos mencionar:

2.9.4.1. CRISTALIZACIÓN FRACCIONADA.

Esta técnica utiliza el coeficiente de solubilidad en un solvente determinado para separar el compuesto de interés de otras impurezas.

2.9.4.2. MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS PARA LA DETERMINACIÓN ESTRUCTURAL DE COMPUESTOS ORGÁNICOS.

Sistemáticamente en la utilización combinada de datos espectroscópicos y espectrométricos de las diferentes técnicas.

2.9.5. MÉTODOS ESPECTROSCOPICOS.

Entre los métodos más comunes son:

2.9.5.1. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA (UV).

Es un método para medir las transiciones electrónicas en las moléculas, indica las regiones UV del espectro electromagnético que son adyacentes entre sí. La espectroscopía UV comprende la absorción de la energía que no es visible a simple vista. Es una herramienta útil en la identificación y elucidación estructural de los compuestos químicos.¹⁹

2.9.5.2. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR).

Los espectros IR, miden los cambios en las vibraciones del estiramiento y flexión que ocurre cuando una molécula absorbe energía electromagnética. Los momentos vibratorios de una molécula depende de dos casos:

1. La masa de los átomos que forman un enlace dado.
2. La naturaleza del enlace en sí, eso es su energía de enlace.

Por otro lado, la energía de las vibraciones de tensión de las moléculas orgánicas, corresponde a una radiación infrarroja con número de onda comprendido entre 600 cm^{-1} y 4000 cm^{-1} . Esta parte del espectro Infrarrojo, es de particularidad utilidad para detectar la presencia de grupos funcionales de interés para la Química Orgánica. Los espectros de IR, pueden ser obtenidos de muestras sólidas, líquidas y gaseosas.

El espectro IR, se obtiene por irradiación de la muestra con luz de la región IR del espectro electromagnético, registrándose en las gráficas el cambio de la intensidad de la radiación como función “ λ ”.⁴⁵

2.9.5.3. ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR (RMN).

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN), es la herramienta espectroscópica más importante para la elucidación de las estructuras de moléculas orgánicas.

La espectroscopia es posible, debido a que las moléculas tienen distintas energías, y el paso de una forma a otra se realiza mediante la adsorción de cuantos directos de radiación electromagnética.

La RMN de alta resolución, permite diferenciar los núcleos de hidrogeno y carbono en ambientes distintos. Su posición característica en el espectro se mide por el desplazamiento químico“. El desplazamiento químico depende de la presencia de (apantallamiento) o ausencia (desapantallamiento) de densidad electrónica. El primer caso lleva a picos más altos, el segundo a picos a campos más bajos.

Los hidrógenos y carbonos químicamente equivalentes, tienen el mismo desplazamiento. El número de hidrogeno que constituyen, se mide por integración, el número y tipo de hidrogeno vecinos, lo proporciona la multiplicidad debido a los desplazamientos spin-spin.

La RMN, utiliza el isotopo del ^{13}C , de baja abundancia natural. El acoplamiento carbono-hidrogeno pueden eliminarse por desplazamiento del patrón, lo que reduce la mayor parte de espectros de ^{13}C a una colección de singuletes.¹⁹

2.9.6. MÉTODO ESPECTROMÉTRICO.

Entre la más conocida tenemos:

2.9.6.1. ESPECTROMETRIA DE MASA (EM).

El bombardeo de molécula con un haz de electrones, de una energía de unos 70 electrón-voltio, puede producir numerosas alteraciones en la estructura molecular. Lo que le ocurre a éste catión de alta energía y a sus productos de fragmentación, constituye la base del método analítico denominado espectrometría de masa.³³

El espectro de masa registra m/e frente a intensidad relativa. El pico más intenso (el más alto) denominado “pico base”, es la referencia en la que se mide los otros picos.¹⁹

2.10. FAMILIA APOCYNACEAE

La familia *Apocynaceae* (cuyo nombre deriva de la palabra anglosajona “baue” que significa veneno) son ricas en alcaloides y muchas veces sus especies, son tóxicas. El látex es usado para el tratamiento de la lepra y la cocción de la corteza o de la raíz para el tratamiento de la malaria, hepatitis, anemia, fiebre, presión alta, bronquitis y también como antiséptico. Dentro de esta familia podemos mencionar algunos géneros de importancia alcaloidal como: *Ambelania*, *Allamanda*, *Aspidosperma*, *Condylocarpon*, *Couma*, *Forsteronia*, *Himatanthus*, *Lacmellea*, *Laxoplumeria*, *Macoubea*, *Malouetia*, *Mandevilla*, *Odontadenia*, *Parahancornia*, *Prestonia* y *Rauwolfia*.

De esta familia se han aislado alcaloides indólicos singulares como reserpina, usado en el tratamiento de la hipertensión, trastornos mentales y esquizofrenia.²⁰

Las características botánicas comprenden árboles, arbustos o lianas (hiervas) con látex blanco (claro o coloreado) en todos los órganos; hojas simples, opuestas o verticiladas (alternas), enteras, con peciolos a veces glandulares, sin (con) estipulas; Flores en cimas dicasiales, racemosas, tirsoideas o paniculadas, terminales o axiales, actinomorfas, bisexuales, hipóginas o periginas (epiginas), bracteadas; cáliz gamosépalo, usualmente con glándulas adentro, lóbulos imbricados; corola gamopétala, frecuentemente con corona de escamas o pelos en la cara adaxial, 5-lobulado, lóbulos contornos; estambres 5, filamentos usualmente unidos a la corola, anteras libres o usualmente conniventes alrededor del estigma, con dehiscencia longitudinal; disco presente, frecuentemente 5-lobulado; ovario súpero (semiínfero), carpelos 2, unidos (sincárpico) o libres (apocárpico) aunque usualmente unidos por el estilo, óvulos pocos a numerosos, estilo simple, estigma usualmente simple; Fruto baya, drupa, capsula ó de 1-2 folículos secos ó coriáceos (leñosos), semillas usualmente comosas, a veces ariladas, aladas, ó ciliadas.⁴

2.11. GENERO ASPIDOSPERMA.

Del género *Aspidosperma* que pertenece a la familia *Apocinaceae* podemos mencionar que son arboles ó arbustos, a veces con fuste fenestrado; látex generalmente ausente en el tronco, blanco o rojizo en la ramitas. Hojas alternas (opuestas ó verticiladas), con venas secundarias pocos diferenciadas y vejación terciaria inconspicua. Cimas ó tirsos terminales, axilares u opositifolias, generalmente fascículo-umbeliformes, a veces ebracteadas; cáliz (4)5-lobulado, sin glándulas; corola hipocrateriforme ó tubular, usualmente blanca, verdosa o amarillenta, levocontorta; anteras libres, ovadas; disco presente o ausente; pistilos 2, súperos ó subínferos, libres, estigma clavado ó subcapitado. Fruto 2 folículos comprimido, a veces leñoso, a veces dolabriformes, semillas con concéntricas.⁴¹

El género *Aspidosperma* se caracterizan por sintetizar alcaloides de tipo indólicos, podemos mencionar algunos de ellos:

N-Acetyl-N-depropionylaspidoalbina, (+) y (-) Apparicina, Aricina, Aspidoalbina, (+) y (-) Aspidospermidina, (+) y (-) Aspidospermina, (+) y (-) Eburinina, (+) y (-) Guatambuina, 10-Methoxydihydrocorynantheol, Olivacina, (+) y (-) Quebrachamina, Vandrikina, α - Yohimbina, (+) y (-) Yohimbina, (-) β - Yohimbina.

2.12. DISTRIBUCIÓN DEL GÉNERO ASPIDOSPERMA.

Este género se encuentra distribuido en los climas cálidos en Brasil, México, Bolivia, Costa Rica, Panamá y Perú. El género tiene aproximadamente 256 especies, y solo un aproximado de 80 especies se encuentran distribuidos entre América Tropical e India Occidental. Las especies encontradas en el Perú, de las cuales 14 especies crecen en la Amazonía Peruana y 9 de ellas en la región Loreto. Los cuales se indican en la Tabla 01.

TABLA N° 01. Distribución del género *Aspidosperma* en el Perú.

DISTRIBUCIÓN EN EL PERÚ	
ESPECIE	UBICACIÓN
<i>Aspidosperma araracanga</i>	Dpto. Loreto y Ucayali.
<i>Aspidosperma capitatum</i>	Dpto. Huánuco y Pasco.
<i>Aspidosperma carapanauba</i>	Dpto. Madre de Dios.
<i>Aspidosperma cylindrocarpon</i>	Dpto. Loreto, Huánuco y Junín
<i>Aspidosperma excelsum</i>	Dpto. Loreto y San Martin.
<i>Aspidosperma macrocarpon</i>	Dpto. Huánuco, Junín, San Martin y Ucayali
<i>Aspidosperma marcgravianum</i>	Dpto. de Loreto, San Martin, Madre de Dios y Junín.
<i>Aspidosperma megaphylum</i>	Dpto. Madre de Dios.
<i>Aspidosperma myristicifolium</i>	Dpto. Madre de Dios.
<i>Aspidosperma parvifolium</i>	Dpto. Loreto, San Martin, Madre de Dios, Cajamarca, Ucayali y Pasco.
<i>Aspidosperma polyneuron</i>	Dpto. Loreto, San Martin, Madre de Dios, Cajamarca, Ucayali y Pasco.
<i>Aspidosperma rigidum</i>	Dpto. Loreto, Madre de Dios, Huánuco y Pasco.
<i>Aspidosperma schultesi</i>	Dpto. Loreto.
<i>Aspidosperma spruceanum</i>	Dpto. Loreto, San Martin.
<i>Aspidosperma desmanthum</i>	Dpto.Loreto. ³⁶

2.13. DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAD.

Se trata de una familia pantropical con algún representante en las regiones templadas. Los bosques tropicales pluviales y pantanosos de la India y de la península Malaya, contienen árboles perennifolios desde muy pequeños hasta de gran talla. Las especies de *Plumeria* muy cultivadas, son originarias de América central. Los bosques de América del sur, África y Madagascar son ricos en lianas. Las adelfas (*Nerium*) son nativas de los biotopos húmedos de la región mediterránea templada.²³

2.14. USOS MÁS IMPORTANTES.

La mayoría de los taxa son tóxicos y varios tienen usos medicinales. En *Catharanthus roseus*, fueron identificados más de 25 compuestos, entre ellos sustancias que interrumpen la división celular y son usadas en quimioterapias para cáncer, incluido la enfermedad Hodgkin y Leucemia aguda. De *Vinca minor* se extrae la Vincamina, que aumenta el flujo de sangre en el cerebro y es usada para el tratamiento de problemas cerebro-vasculares. De *Rauvolfia serpentina* se obtiene un compuesto utilizado para controlar la presión alta en la sangre, y fue muy importante para tratar los problemas cardíacos. Algunos géneros son importantes plantas ornamentales y las especies de algunos géneros, especialmente, *Aspidosperma*, son maderables.³⁴

2.15. CLASIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA ESPECIE.

ASPIDOSPERMA CAMPORUM Müll Arg.

La especie *Aspidosperma camporum Müll Arg.* Es un árbol, que se encuentra en los bosques amazónicos, en los departamentos del Perú que se mencionaron. En la Amazonía Peruana esta especie es conocida como Remo Caspi de bajéal, Pinshacspi, Quillobordon, culantrillo. En la Amazonía Brasileira es conocida como: Pumaquiro, Carapanaúba, Lacamin, Maparaná. En Costa Rica es conocida como: Amargo. En Panamá se le conoce como: Alcarreto, volador. El Remo caspi de bajéal crece a bajas y medianas elevaciones, en climas húmedos o muy húmedos. Es común en bosques lluviosos de la parte central y del Caribe en el Canal de Panamá, pero muy raro o escaso en bosques secos del Pacífico.

2.16. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Aspidosperma camporum Müll Arg

Reino	:	Plantae
División	:	Tracheophyta
Grupo	:	Aspidosperma
Clase	:	Magnoliopsida
Subclase	:	Asteridae
Orden	:	Gentianales
Familia	:	Apocynaceae
Género	:	<i>Aspidosperma</i>
Especie	:	<i>Aspidosperma camporum</i> – Mull.Arg.
Distribución	:	Amazonas, Huánuco, Junín, Loreto, Pasco, San Martín.

2.17. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA ESPECIE.

Arboles hasta 30m; ramitas tomentosa, con látex rojo. Hojas oblongo-lanceoladas, 10-18X 5-8 cm, ápice sub obtuso a obtuso, base cuneada a redondeada, haz glabro, envés pubérulo, blanco, venas secundarias 10-16 pares, venación terciaria inconspicua; peciolo 15-25 mm de largo. Panículas terminales, pubérulas; lóbulos calicinos pubescentes 2 mm de largo; corola con tubo glabro, constricto, caloso 3 mm de largo, lóbulos lineales 3 mm de largo, Folículos lisos, tomentosos, 15X12 cm.⁴¹

2.18. USOS.

Esta especie no casi tiene usos, básicamente se utiliza para el tratamiento de la malaria (la cocción de la corteza del tronco y la corteza de la raíz) y la característica más usual de los usos de este género es la madera para la construcción de viviendas.³⁶

2.19. DEFINICIONES OPERACIONALES

2.19.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

- Alcaloides presentes en la corteza de *Aspidosperma camporum*.

2.19.2. VARIABLE DEPENDIENTE

- Identificación estructural de los alcaloides aislados

2.20. HIPOTESIS

La corteza de *Aspidosperma camporum* (*Quillobordon*) contiene alcaloides indólicos que pueden ser aislados e identificados.

CAPITULO

III

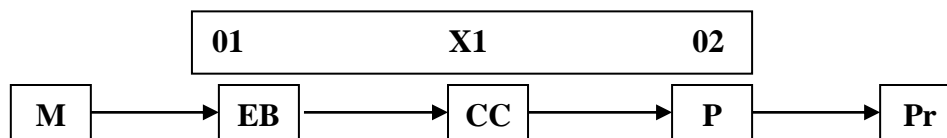
3.0. METODOLOGIA Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

3.1. TIPO DE ESTUDIO

- Descriptivo

3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.

- Descriptivo modalidad Pre test - Post test con un solo grupo.



3.3. TRAMIENTO DE DATOS.

Al ser el diseño descriptivo modalidad pre test, post test con un solo grupo, no se utilizarán programas estadísticos para evaluar los resultados; la recolección de datos y los resultados de la investigación se describirán en el desarrollo de la tesis.

3.4. POBLACION Y MUESTRA

3.4.1. Población Vegetal.

La población de la especie en estudio está conformada por árboles adultos, de *Aspidosperma camporum* (Quillobordon) Apocynaceae

3.4.2 Muestra Vegetal.

La muestra en estudio corteza de *Aspidosperma camporum* (Quillobordon), se recolectó de forma aleatoria, de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión.

3.5 CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA

3.5.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

- Material vegetal correctamente identificado
- Material vegetal (Cortezas adultas) en buen estado de conservación.

3.5.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Material vegetal (corteza) que no contenga alcaloide entre sus metabolitos secundarios
- Material vegetal (Corteza) que se encuentre en mal estado de conservación y que presente signos visibles de descomposición microbiana

- Material vegetal que no pertenezca a la familia Apocynaceae
- Cortezas con resto de excremento de animal.

3.6. MATERIALES Y REACTIVOS

3.6.1. Equipos.

- Rotavapor.
- Aparato de punto de fusión.
- Computadora
- Estufa eléctrica.
- Bomba de vacío.
- Lámpara de U.V.
- Balanza electrónica digital.
- Equipo de destilación fraccionada.
- Espectrofotómetro U.V.
- Agitador magnético.

3.6.2. Instrumentos (Colaboración – Instituto Universitario de Bio-Orgánica).

- Espectrofotómetro de Infra-Rojo (I.R).
- Espectrómetro de masa (E.M).
- Resonancia Magnética Nuclear (RMN, ^1H y ^{13}C).
- Polarímetro.

3.6.3. Material de laboratorio.

- Columnas cromatográficas.
- Vasos de precipitado.
- Celdas cromatográficas.
- Pipetas Pasteur.
- Fiolas.
- Viales.
- Embudos de filtración al vacío.
- Cápsulas de porcelana.
- Embudo de filtración simple.
- Desecadores.
- Probetas.
- Erlenmeyers.
- Balones de fondo redondo de diferentes volúmenes con boca esmerilada.
- Peras de separación de diferentes volúmenes.

3.6.4. Insumos químicos

- **Solventes Orgánicos**
- Etanol.
- Metanol
- Diclorometano
- Hexano
- Acetato de etilo.

a) Reactivos

- H₂SO₄
- NaOH
- NH₄OH
- KI
- Na₂SO₄ anhidro

b) Adsorbentes.

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

3.7. TÉCNICAS INSTRUMENTALES Y EQUIPOS

3.7.1. TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

3.7.1.1. Cromatografía de columna (CC).

Para las cromatografías en columnas, se utilizó como fase estacionaria Alúmina básica Actividad I art 1076, alúmina 90 Actividad II y III art 1097 y silicagel 60 art 1.07734. Como fase móvil se utilizó mezclas de disolventes de hexano – acetato de etilo y acetato de etilo – metanol en polaridad creciente.

3.7.1.2. Cromatografía de capa fina (CCF).

El seguimiento de las columnas cromatográficas se realizó por cromatografía de capa fina (CCF), utilizando placas comerciales: Cromatofolios de óxido de aluminio 60 F₂₆₄ neutro, tipo E (MERCK), Cromatofolios de gel de sílice F 1500/LS 254 (MERCK) y. Como eluyente se usaron los mismos solventes que para la cromatografía de columna. Para la visualización de los alcaloides se utilizó el reactivo de Dragendorff.

3.7.1.3. Cromatografía preparativa (C.P)

Para la separación de los productos se utilizarán los mismos cromatofolios que en cromatografía en capa fina 20 x 20cm, dichas placas se usaron a escala preparativa, sembrándose en este caso entre 10 y 25mg. de producto por placa.

Como fase móvil se usaran los mismos disolventes que en cromatografía de columna.

3.8. RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR (RMN).

Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C , se midieron en espectrómetros Bruker, Avance 400 MHz y Bruker, AMX 500 MHz. Los productos se disolvieron en CDCl_3 y CD_3OD y como referencia interna se usó Tetrametilsilano (TMS).

Los experimentos de correlación homo y heteronuclear ^1H – COSY, NOESY, HSQC y HMBC se obtuvieron en el espectrómetro Bruker AMX de 500 MHz, usando los programas suministrados por la firma de Bruker.

Los valores de los desplazamientos químicos (δ) se expresan en ppm en relación con el disolvente empleado como referencia interna y las constantes de acoplamiento (J) en Hz.

3.9. ESPECTROMETRIA DE MASAS (EM).

Los espectros de masas de baja y alta resolución se midieron en un espectrómetro Vg .Micromass modelo Zab 2F. La temperatura de la fuente de 220°C y la energía de ionización de 70 eV. Para cada producto se indican los picos más significativos y su intensidad relativa.

3.10. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR).

Los espectros de IR se obtuvieron en un espectrofotómetro Perkin – Elmer modelo 1600/ FTIR. El producto puro se disolvió en CHCl_3 seco, se aplicó en la superficie de una pastilla de NaCl (5mm de espesor). Los valores de frecuencia (ν) se expresaron en cm^{-1} .

3.11. ACTIVIDAD OPTICA

Las actividades ópticas se midieron en un polarímetro Perkin Elmer modelo 241 a 20°C , usando la línea D de sodio, para lo cual las muestras de masa conocida se disolvieron en 2 ml de cloroformo previamente destilado y seco.

3.12. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

La corteza de de *Aspidosperma camporum*, recolectado en Mishana, Rio Nanay, Distrito de San Juan Bautista, a 30° 50' Sur, 73° 30' Oeste, se secó a la temperatura de 20°C por un periodo de 08 días, se molió, obteniéndose un peso de 4,4 Kg.

Los 4,4 Kg de *A. camporum*, se maceró con etanol a temperatura ambiente por un periodo de 60 días, con renovación de solvente cada 72 horas, el etanol se eliminó a presión reducida en un rotavapor hasta sequedad, se pesó y se obtuvo 102.4 g de extracto etanólico.

El extracto etanólico 102.4 g se disolvió en H₂SO₄ 0,5 N, se extrajo con CH₂Cl₂ obteniéndose 6.67 g de extracto alcaloidal ácido, el extracto acuoso se basificó a pH=9 con NH₄OH después de extraer con CH₂Cl₂ y evaporar el solvente se obtuvo 2.28 g de extracto alcaloidal básico y un residuo alcaloidal a pH= 9. El extracto alcaloidal ácido (6.67 g) y el residuo del extracto alcaloidal ácido por contener muchos compuestos no alcaloidales se volvió a extraer a pH =9, se obtuvo 8.4 de extracto alcaloidal básico, por cromatografía de capa se unió el extracto alcaloidal básico y el residuo alcaloidal básico y se denominó extracto alcaloidal básico con un peso de 13.8 g.

El extracto alcaloidal básico (13.8g), se fraccionó sobre óxido de aluminio neutro, como fase móvil se utilizó mezclas de: Hexano, hexano- acetato de etilo, acetato de etilo, acetato de etilo- metanol se obtuvieron 135 fracciones de 250 ml. cada fracción. El análisis de cromatografía de capa fina (CCF) nos permitió agrupar en las siguientes fracciones: 7-11 (65.9mg), 12-16 (28.5mg), 17-22(9.4mg), 23-25 (11.0mg), 26-44 (500.9mg), 45-51 (62.0mg), 52-54 (119.4mg), 55-77(612.1mg), 105-108 (22.2mg), 111-125, 126-134.

La fracción 7- 1 (65.9mg), se cromatografió sobre óxido de aluminio 90, actividad neutro como fase móvil se utilizó hexano, hexano- acetato de etilo, se obtuvieron 29 fracciones por cromatografía de CCF se agruparon en: F(6)(20.4mg), F(7-9) (13.8mg), las otras fracciones se desechan por ser mezclas complejas y poca cantidad. La fracción (6) (20.4 mg), se sembró en 01 cromatofolio de óxido de aluminio a escala preparativa se eluyó con hexano / acetato de etilo (98: 2%) se obtuvo un producto puro por resonancia de ¹H y ¹³C se identificó como **Flenderina**, la fracción F(7-9) por ser poca

cantidad al intentar purificar, no se pudo purificar los compuestos. La fracción 26-44 (500.9mg) se cromatografió, como fase móvil se utilizó óxido de aluminio neutro, como fase móvil mezclas de: Hexano, hexano- acetato de etilo, y acetato de etilo, acetato de etilo –metanol, se obtuvieron 61 fracciones por cromatografía de capa fina se hizo las siguientes agrupaciones: 18-23 (102.8mg) por RMN ^1H y ^{13}C se identificó como **FLENDERINA**, 24-26, (39.2mg), 27-29 (83.2 mg), 30-39 (15.0 mg), 40-45 (15.0 mg), (40-45) poca cantidad se desecha, 46-61 (60.7 mg).

La fracción 27-39(98,2 mg) se fraccionó utilizando como fase móvil óxido de aluminio neutro y como fase estacionaria mezclas de hexano, acetato de etilo, se obtuvieron 52 fracciones, el análisis cromatográfico de capa fina nos permitió agrupar en : 19-42 (95.5 mg), las demás fracciones se desecharon poca cantidad y mezclas complejas.

La fracción 19-42 se fraccionó sobre óxido de aluminio neutro y como fase móvil mezclas de hexano- acetato de etilo, se recogieron 27 fracciones que se agrupó en : 14-24 (69.6 mg) las demás fracciones La fracción 14-24 se purificó por cromatografía preparativa la muestra se sembró en 04 cromatofolios de óxido de aluminio y se eluyó 5 veces con hexano : acetato de etilo (90:10), después de retirar el alcaloide del adsorbente se obtuvo (42.0 mg) y se denominó 14-24 PTC-2 por RMN de ^1H y ^{13}C se identificó a este compuesto como **ASPIDOLIMIDINA**.

La fracción 55-77 (612.1mg) obtenido del extracto alcaloidal básico, se cromatografió sobre óxido de aluminio neutro como fase móvil se utilizó mezclas de hexano, acetato de etilo obtuvieron 95 fracciones, el análisis cromatográfico de cromatografía de capa fina nos permitió agrupar en : 36-45 (47.8 mg), 46-60 (90.8 mg), 61-66 (73.2 mg), 67-68 (12.1mg), 69-70 (17.9mg), 71-19 (19.1mg),

La fracción 36-45 (47.8 mg) se fraccionó sobre óxido de silicio como fase móvil se utilizó mezclas de hexano, acetato de etilo se obtuvieron 81 fracciones, en la fracción 54-81 (35.3 mg) se observa mayor cantidad de alcaloide.

La fracción 46-60 (90.8mg) se fraccionó, sobre óxido de silicio, como fase móvil se utilizó mezclas de hexano, acetato de etilo, se obtuvieron 68 fracciones, en la fracción 53-59 (38.1 mg) se observa mayor concentración de alcaloide.

Las fracciones 54-81 (35.3 mg), 53- 59 (38.1 mg), se unieron y se denominó fracción 53-81(73.4mg) de purifico sobre oxido de silicio, como fase móvil se utilizó mezclas de hexano-acetato de etilo se obtuvo 42 fracciones la fracción 29-34 (32.1mg) por RMN ^1H y ^{13}C , se identificó como el alcaloides **10- METOXI DESACETILAKUAMMILINA**

DIAGRAMA N °1: EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES DE LA CORTEZA DE *Aspidosperma camporum* Müll. Arg (Quillobordon)

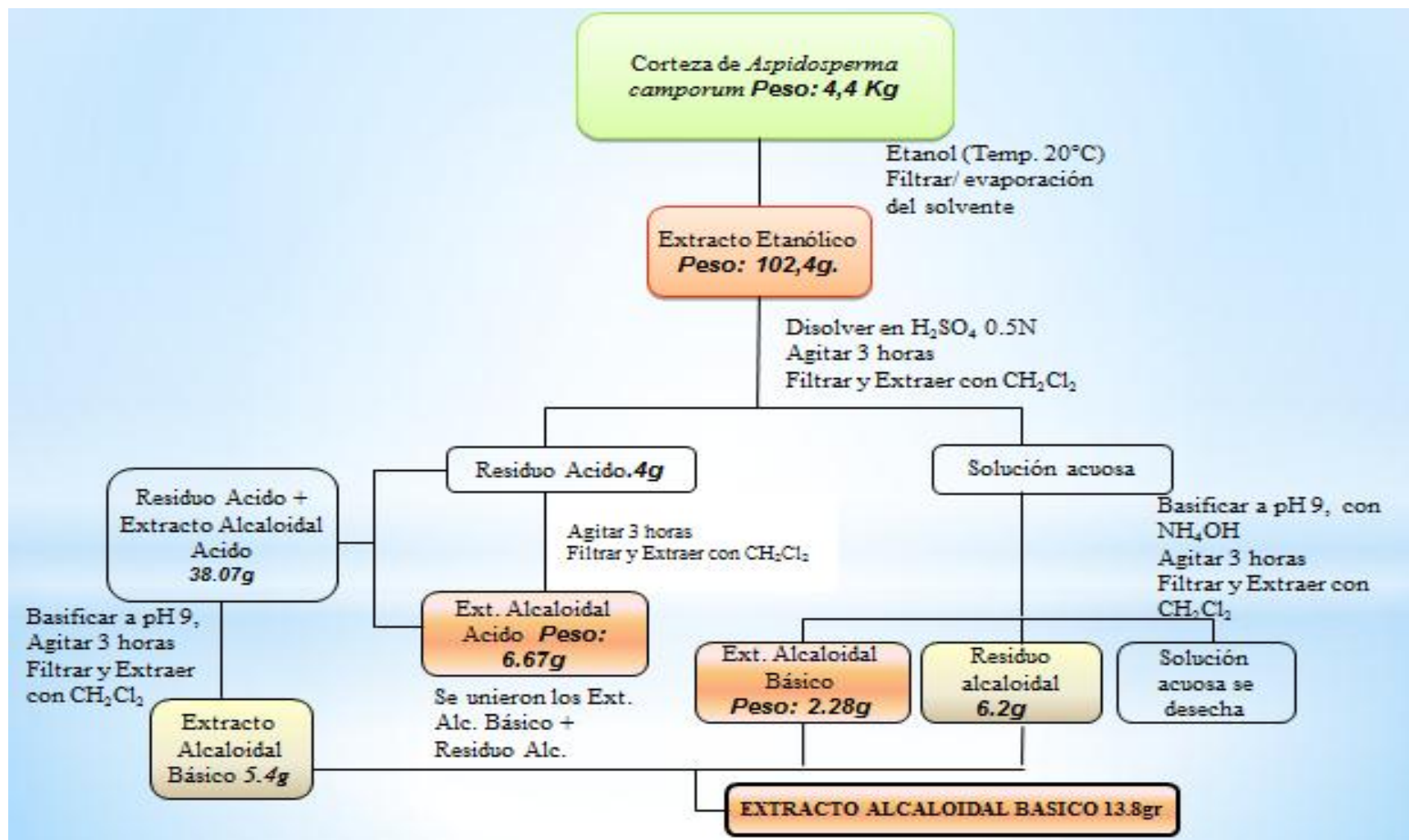
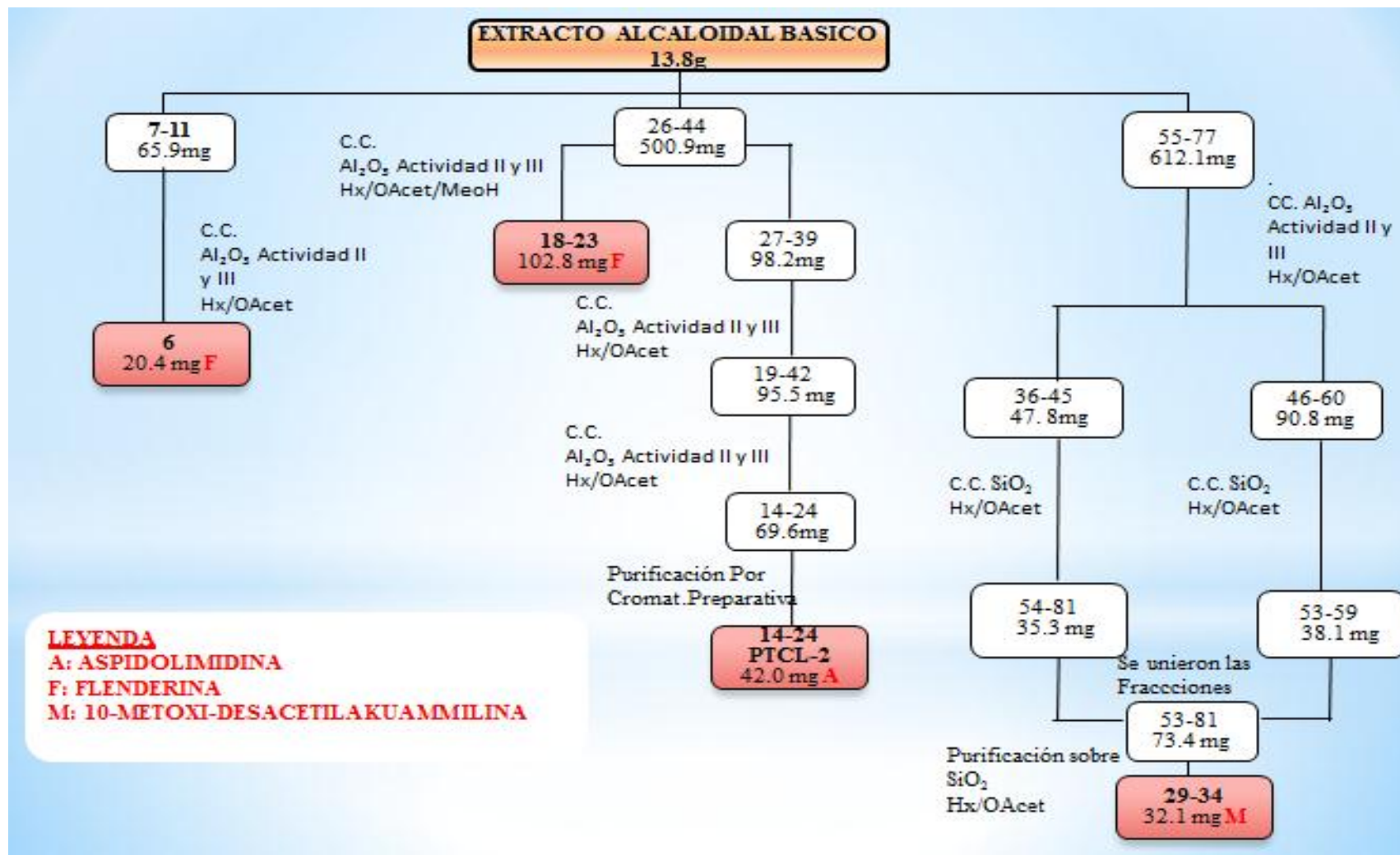


DIAGRAMA N° 02. : FRACCIONAMIENTO, AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE LA CORTEZA DE *Aspidosperma Camporum* DEL EXTRACTO ALCALOIDAL BÁSICO



CAPITULO IV

4.0. RESULTADOS

Del extracto alcaloidal básico (13.8 g), se aislaron los alcaloides: Flenderina, 10 Metoxidesacetilakummilina y Aspodolimidina.

4.1. 10-METOXIDESACETILAKUAMMILINA

Sólido amorfo (8.0mg), $[\alpha]_D^{25} + 89.5$ (c,0.32, CHCl₃).

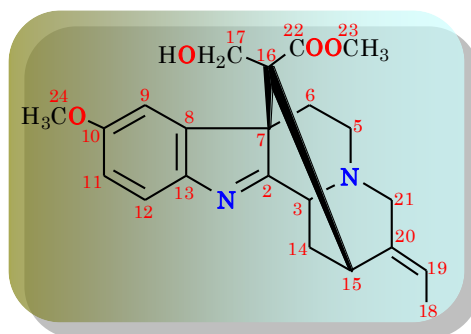
IR (CHCl₃) $\nu_{\text{máx.}}$ cm⁻¹: 3359, 2930, 1731, 1627, 1588, 1468, 1283, 1221, 1108, 1080, 1026, 817 y 754 cm⁻¹

EM de baja resolución, m/z (int. rel. %): 382 M⁺ (100), 381 (14), 367 (3), 365 (6), 354 (4), 352 (20), 351 (64), 340 (7), 323 (4), 293 (13), 291 (10), 290 (8), 279 (13), 277 (11), 263 (12), 262 (10), 222 (5), 210 (6), 199 (11), 197 (5), 186 (10), 167 (7), 166 (7), 184 (7), 138 (10), 123 (11), 122 (15), 121 (25), 111 (22), 109 (13), 97 (37), 95 (21), 85 (50), 83 (46), 82 (27), 69 (41), 57 (67).

EM de alta resolución, m/z : [M]⁺ 382.1893 calculado para un C₂₂H₂₆N₂O₄.

RMN de ¹H (500 MHz, CD₃OD): δ_H 4.46 (1H, d, J=4.4 Hz, H-3 α), 2.72 (2H, m, H-5 α), 2.54 (1H, dd, J=4.7, 13.6, H-5 β), 3.72 (1H, m, H-6 β), 1.99 (1H, dd, J=4.4, 15.4, H-6 α), 7.17 (1H, d, J = 2.6 Hz, H-9), 6.93 (1H, dd, J = 2.6, 8.6 Hz, H-11), 7.47 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-12), 2.50 (1H, q, J=2.6 Hz, H-14 α), 1.96 (1H, dd, J = 3.2, 15.4, Hz, H-14 β), 3.81 (1H, m, H-15 α), 2.73 (1H, d, J = 12.2 Hz, H-17B), 2.98 (1H, d, J = 12.2 Hz, H-17A), 1.62 (3H, dd, J = 2.6, 7.2 Hz, H-18), 5.56 (1H, q, J = 7.2 Hz, H-19), 4.11 (1H, dt, J = 2.5, 17.1 Hz, H-21 α), 3.26 (1H, da, J = 17.1, H-21 β), 3.82 (3H, s, H-23), 3.80 (3H, s, H-24).

RMN¹³C (400 MHz, CD₃OD): δ_C 188.1 (s, C-2), 54.2 (d, C-3), 51.2 (t, C-5), 37.2 (t, C-6), 58.8 (s, C-7), 145.8 (s, C-8), 111.6 (d, C-9), 158.8 (s, C-10), 112.4 (d, C-11), 120.5 (d, C-12), 148.0 (s, C-13), 29.9 (t, C-14), 33.6 (d, C-15), 60.1 (s, C-16), 62.4 (t, C-17), 12.5 (q, C-18), 120.1 (d, C-19), 138.3 (s, C-20), 52.8 (t, C-21), 173.2 (s, C-22), 54.7 (q, C-23), 50.9 (s, C-24).



4.2. ASPIDOLIMIDINA

Alcaloide aislado como resina (17.0 mg.); $[\alpha]_D^{25} + 148.0$ (c, 1.36, CHCl_3).

IR (CHCl_3) $\nu_{\text{máx.}} \text{ cm}^{-1}$: 3399, 2934, 1632, 1599, 1576, 1462, 1385, 1253, 1081, 1018, 950, y 753 cm^{-1}

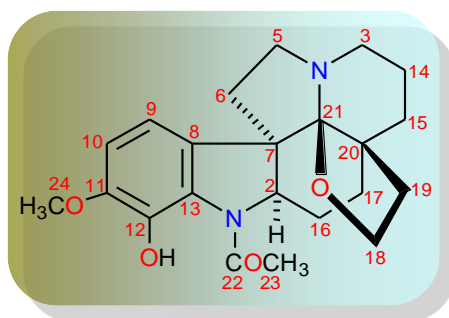
EM de baja resolución, m/z (int. rel., %): 384 (28),

383 (7), 357 (7), 356 (24), 354 (7), 341 (13), 340 (47), 339 (20), 311 (3), 297 (4), 232 (8), 203 (10), 190 (8), 189 (6), 185 (10), 176 (4), 166 (4), 160 (18), 146 (4), 139 (11), 138 (100), 125 (3), 122 (4), 111 (7), 97 (10), 95 (7), 85 (13), 83 (19), 81 (10), 71 (12), 69 (13), 57 (19), 55 (17).

EM de alta resolución, m/z : $[M]^+$ 384.1811 calculado para un $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$,

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 3.83 (1H, m, H-2 α), 2.76 (1H, dd, $J = 2.4, 11.3$ Hz, H-3A), 2.60 (1H, da, $J = 11.0$, H-3B), 2.98 (1H, m, H-5A), 2.91 (1H, m, H-5B), 2.01 (1H, m, H-6A), 1.81 (1H, m, H-6B), 7.05 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-9), 6.70 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-10), 1.73 (1H, m, 14A), 1.43 (1H, m, H-14B), 1.73 (1H, m, H-15A), 1.34 (1H, da, $J = 9.8$ Hz, H-15B), 1.76 (1H, m, H-16A), 1.76 (1H, m, H-16B), 1.90 (1H, m, H-17A), 1.43 (1H, dt, $J = 3.4, 13.8$ Hz, H-17B), 4.14 (1H, t, $J = 8.5$ Hz, H-18A), 4.05 (1H, m, H-18B), 1.90 (1H, m, H-19A), 1.23 (1H, m, H-19B), 2.30 (3H, s, H-23), 3.86 (3H, s, H-24), 10.71 (1H, s, OH).

RMN de ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): δ_{C} 70.6 (d, C-2), 43.9 (t, C-3), 48.8 (t, C-5), 36.6 (t, C-6), 57.5 (s, C-7), 132.4 (s, C-8), 114.6 (d, C-9), 110.3 (d, C-10), 149.5 (s, C-11), 137.1 (s, C-12), 128.0 (s, C-13), 21.0 (t, C-14), 32.9 (t, C-15), 24.9 (t, C-16), 26.4 (t, C-17), 65.2 (t, C-18), 34.5 (t, C-19), 39.7 (s, C-20), 101.7 (s, C-21), 168.9 (s, C-22), 22.9 (q, C-23), 56.4 (q, C-24).

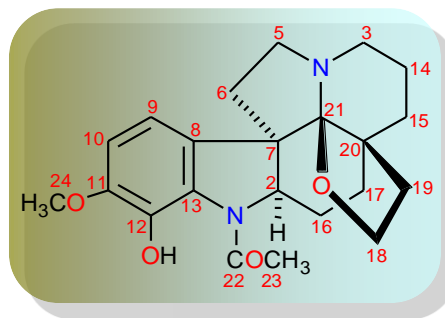


4.3. FLENDERINA

Alcaloide aislado como sólido amorfo (60.5mg)

$[\alpha]_D^{25} + 237.6$ (c, 0.63, CHCl_3).

IR (CHCl_3) $\nu_{\text{máx.}}$ cm^{-1} : 3446, 2938, 1633, 1599, 1576, 1456, 1380, 1253, 1219, 1063, 1018, 950, 850 y 753 cm^{-1}



EM de baja resolución, m/z (int. rel., %): 398 (59), 397 (11), 371 (13), 370 (54), 368 (15), 367 (4%), 355 (13), 354 (53), 353 (34), 341 (8), 339 (9), 294 (5), 269 (2), 190 (6), 188 (5), 176 (5), 176 (4), 161 (12), 160 (25), 139 (14), 138 (100), 136 (5), 124 (7), 122 (4), 110 (4), 96 (3), 91(3), 85 (13), 81 (3), 77 (3), 55 (3).

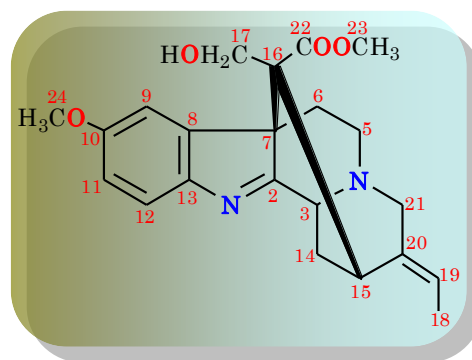
RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 3.88 (1H, dd, $J=5.6, 10.8$ Hz, H-2 α), 2.72 (1H, t, $J = 11.3$ Hz, H-3A), 2.61 (1H, m, H-3B), 2.96 (1H, m, H-5A), 2.90 (1H, m, H-5B), 2.02-1.68 (2H, m, H-6A y 6B), 7.04 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-9), 6.68 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-10), 1.52 (1H, m, 14A), 1.75 (1H, m, H-14B), 2.02-1.68 (2H, m, H-15A, 15B), 2.02-1.68 (2H, m, 16A, 16B), 1.80-1.91 (1H, m, H-17A), 1.42 (1H, dt $J=3,5,13.8$, H-17B), 4.16 (1H, t, $J=8.4$ Hz, H-18A), 4.05 (1H, m, H-18B), 2.02-1.68 (1H, m, H-19A), 1.29 (1H, m, H-19B), 2.53 (1H, m, H-23A), 2.48 (1H, dq, $J=7.5, 15.2$, H-23B), 1.23 (3H, t, $J = 7.5$, H-24), 3.85 (3H, s, H-25) 10.80 (1H, s, OH).

RMN de ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): δ_{C} 69.9 (d, C-2), 44.3 (t, C-3), 49.1 (t, C-5), 36.8 (t, C-6), 57.9 (s, C-7), 132.8 (s, C-8), 114.9 (d, C-9), 110.3 (d, C-10), 149.9 (s, C-11), 137.7 (s, C-12), 128.7 (s, C-13), 21.4 (t, C-14), 33.4 (t, C-15), 25.4 (t, C-16), 26.8 (t, C-17), 65.5 (t, C-18), 34.8 (t, C-19), 40.1 (s, C-20), 102.1 (s, C-21), 172.5 (s, C-22), 28.7 (t, C-23), 10.2 (q, C-24), 56.7 (q, C-25).

4.4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.4.1. 10-METOXIDESACETILAKUAMMILINA

Alcaloide aislado como sólido amorfo, de $[\alpha]_D^{25} + 89.5$ (c, 0.032, CHCl_3), su espectro de IR muestra bandas de absorción a: 3359cm^{-1} de un grupo hidroxilo (OH), 2930 (C-H), 1731 y 1224cm^{-1} de un grupo éster ubicado sobre el C-16, 1627cm^{-1} (C=N) característica de una 2,3-indolenina disustituida⁵², 1108 y 1080 para un éter interno C-O del grupo metoxilo, ubicado sobre el C-10. y 734cm^{-1} que corresponde a las vibraciones C-H del anillo aromático. En el espectro de masas de baja resolución, el ión molecular aparece como un pico intenso a m/z : 382 (100%) (EM de alta resolución m/z : $[\text{M}]^+$ 382.1893 calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$), así como los fragmentos que corresponden a pérdidas de grupos periféricos a m/z : 365 (6) $[\text{M}^+ - \text{OH}]$, 354 (4) $[\text{M}^+ - \text{CH}=\text{CH}_3]$, 351 (64) $[\text{M}^+ - \text{OCH}_3]$, 323 (14) $[\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{CH}_3]$, usualmente observados en este tipo de compuestos⁴³.



En los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se observa tres protones aromáticos a δ_{H} 7.17 (1H, *d*, $J = 2.6$ Hz), 6.93 (1H, *dd*, $J = 2.6, 8.6$ Hz), 7.47 (1H, *d*, $J = 8.6$ Hz), éstos protones correlacionan con sus respectivos carbonos en el experimento HSQC a δ_{C} 111.6 (*d*, C-9), 112.9 (*d*, C-11) y 120.5 (*d*, C-12). En el experimento HMBC el protón H-9 presentó acoplamiento a tres enlaces con los carbonos C-7, C-11, C-13, el protón H-11 con los carbonos C-9, C-13 y el protón H-12 con dos carbonos cuaternarios C-8 y C-10 con lo cual queda plenamente establecido la ubicación de estos protones y carbonos en la molécula. Además, se observa dos singletes a δ_{H} 3.80 y 3.82 que integran cada uno para 3H, atribuibles a dos grupos metoxilos, el primero de ellos sobre el anillo aromático localizado en el carbono C-10 y el segundo metoxilo se asignó a un éster localizado en el carbono C-16 por las conectividades observadas, en un experimento HMBC.

Por otra parte, las señales a δ_{H} 4.46 (1H, *d*, $J=4.4$ Hz, H-3 α), 2.50 (1H, *m*, H-14 α), 1.96 (1H, *d*, H-15), 3.81 (1H, *s*, H-15), 4.11 (1H, *dt*, $J=2.5, 17.1$, H-21A), 3.26 (1H, *da*, $J=17.1$ Hz, H-21B), así como aquellas a δ_{H} 1.62 (3H, *dd*, $J = 2.6, 7.2$ Hz, H-18) y 5.56 (1H, *q*, $J = 7.2$ Hz, H-

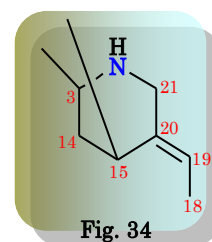
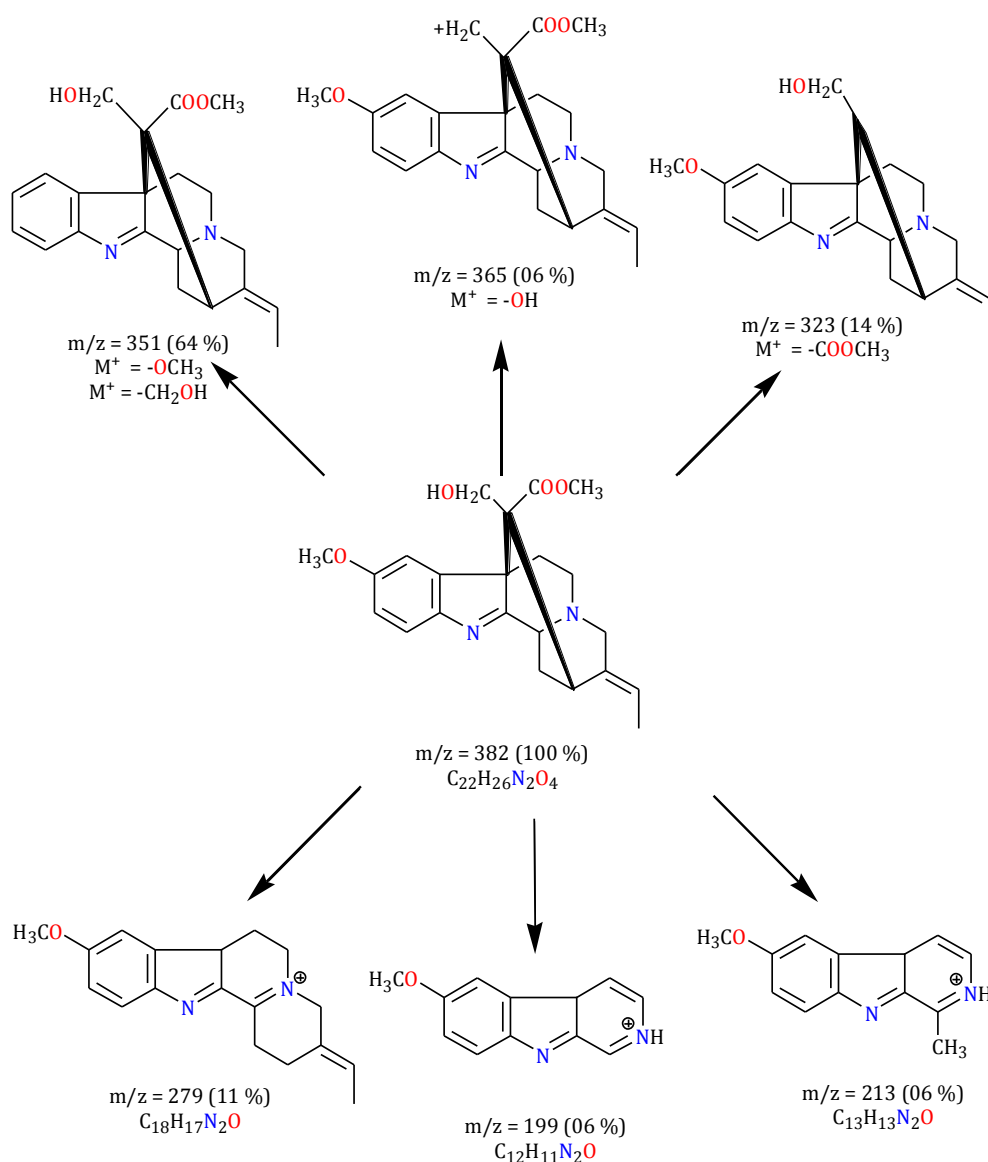


Fig. 34

19) que corresponden a un grupo $-\text{CH}=\text{CH}_3$, nos permite proponer la estructura parcial que se indica en la figura 03.

Finalmente, la identidad del alcaloide se estableció por comparación de sus datos espectroscópicos con los publicados para 10-metoxi-desacetilakuammilina o nervobscurina, alcaloide previamente aislado de *Vinca minor*.⁵⁰ 10-metoxi-desacetilakuammilina se aísla por primera vez del género *Aspidosperma*.

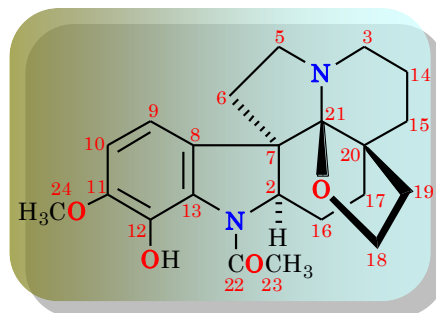
FIGURA 03: FRACCIONAMIENTO DE MASAS DEL ALCALOIDE 10-METOXIDESACETILAKUAMMILINA



4.4.2. ASPIDOLIMIDINA

Alcaloide aislado como resina (17.0 mg.); $[\alpha]_D^{25} + 148.0$ (c, 1.36, CHCl_3).

En el espectro de IR se observan bandas a características a 3339cm^{-1} de un grupo hidroxilo, 1632 , 1599cm^{-1} correspondiente a una amida (N-C=O) y 755cm^{-1} que corresponde a la vibración de C-H del anillo aromático.



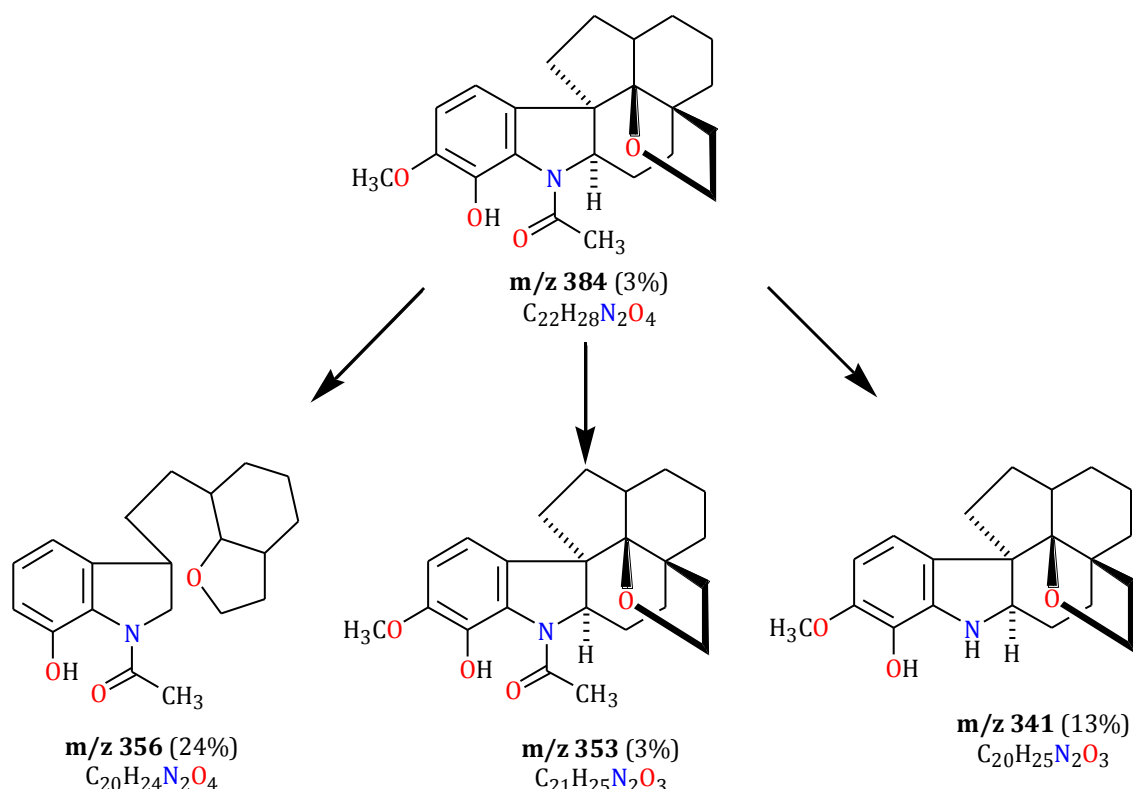
El espectro de masas dio un ión molecular a m/z :384 (28%), medido mediante espectrometría de masas de alta resolución, $[M]^+$ 384.2049, calculado para un $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$, así como fragmentos a m/z : 383 $[M^+-1]$, 356 $[M^+-\text{CO}]$, 353 $[M^+-\text{OCH}_3]$, 341 $[M^+-\text{COCH}_3]$, y a m/z 138 (100%) que corresponde a su pico base⁵¹.

En el espectro de RMN de ^{13}C , se observan 22 señales correspondientes a 22 carbonos de los cuales tres (03) son metilenos, nueve (09) metinos, dos (02) metilos y ocho (08) carbonos cuaternarios.


En el espectro de RMN de ^1H , los protones metilénicos δ_{H} : 3.83 (1H, m.), 7.05 (1H, d, $J = 8.3$ Hz) y el próton a δ_{H} 6.70 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), por su posición y multiplicidad, fueron asignados a los protones H-2 α , H-9, H-10, respectivamente, así como también por su conectividad en el experimento HSQC con los Carbonos a δ_{C} : 70.6d, 114.6d y 110.3d, las señales a δ_{H} : 2.30(3H, s), 3.86 (3H, s), en el espectro de ^1H , integran para tres protones cada señal, se asignó al H-23 y H-24. El protón H-24 en el experimento HMBC dió conectividades a dos y tres enlaces con el C- 11 y C-13 respectivamente, quedando así establecida la posición de los protones de los metilos del grupo metoxilo y del acetato ubicado sobre el C-11 y el Nitrógeno del anillo indólico respectivamente.

Las demás señales fueron establecidas en función de los desplazamientos químicos de los ^1H y ^{13}C , constantes de acoplamiento y por comparación con los datos reportados en la bibliografía, cabe indicar que aspidolimidina ha sido aislado previamente de *Aspidosperma album*⁴⁴, *A. limae*²⁶ *A. marcgravianum*¹¹.

FIGURA N° 04: FRACCIONAMIENTO DE MASAS DEL ALCALOIDE ASPIDOLIMIDINA



4.4.3. FLENDERINA

Alcaloide aislado como sólido amorfo;  + 237.6 (c, 0.63, $CHCl_3$)

 + 237.6 (c, 0.63, $CHCl_3$). En el IR se observa

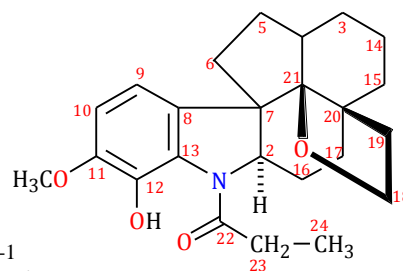
absorciones a 3446 cm^{-1} que corresponde a un

grupo hidróxilo (OH), 1633 y 1576 cm^{-1} ,

a un grupo (-N-COR) características de ,

de N- acilindolinas, 1018 cm^{-1} para enlace C-O, 753 cm^{-1} .

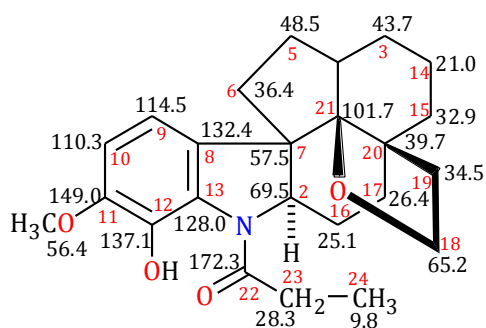
C- H anillo aromático (flexión del anillo del benceno). Su espectro de masas presenta 14 unidades más que el espectro de aspidolimidina ($m/z = 384$) que corresponde a la incorporación de un CH_2 en la molécula, otra diferencia observada entre nuestro alcaloide y el compuesto aspidolimidina, es la ausencia de las señales correspondientes a un grupo (N-CO- CH_3) y en su lugar se observan señales para un grupo (N-CO- CH_2 - CH_3) a δ_H 2.53(1H,m, H-23A), 2.48 (1H,dq, J=7.5,15.2, H-23B), 1.23 (3H, t, J= 7.5, H-



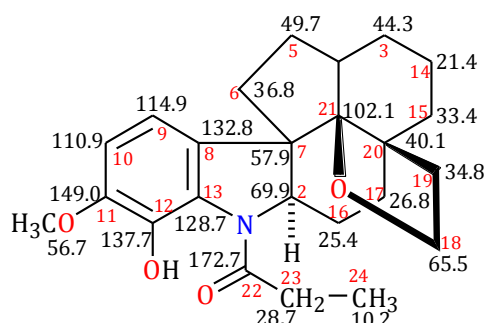
24),), las cuales son correlacionadas con sus respectivos carbonos mediante el experimento (HSQC) a δ_C 28.7 (q, C-23), 10.2 (q, C-24).

El espectro de masas se observa el ión molecular a m/z : 398 (59%), determinado mediante espectrometría de masas de baja resolución que corresponde a $C_{22}H_{28}N_2O_4$, así como fragmentos a m/z : 371 [M^+ -CO], 370 [M^+ -CH₂-CH₃], 367 [M^+ -OCH₃], 355 [M^+ -COCH₃], y a m/z 138 (100%) que corresponde a su pico base³⁵.

Los demás datos espectroscópicos se identificaron por comparación con los reportados en la bibliografía química^{1,66}.



Flenderina Publicado



Flenderina aislado-LIPNAA

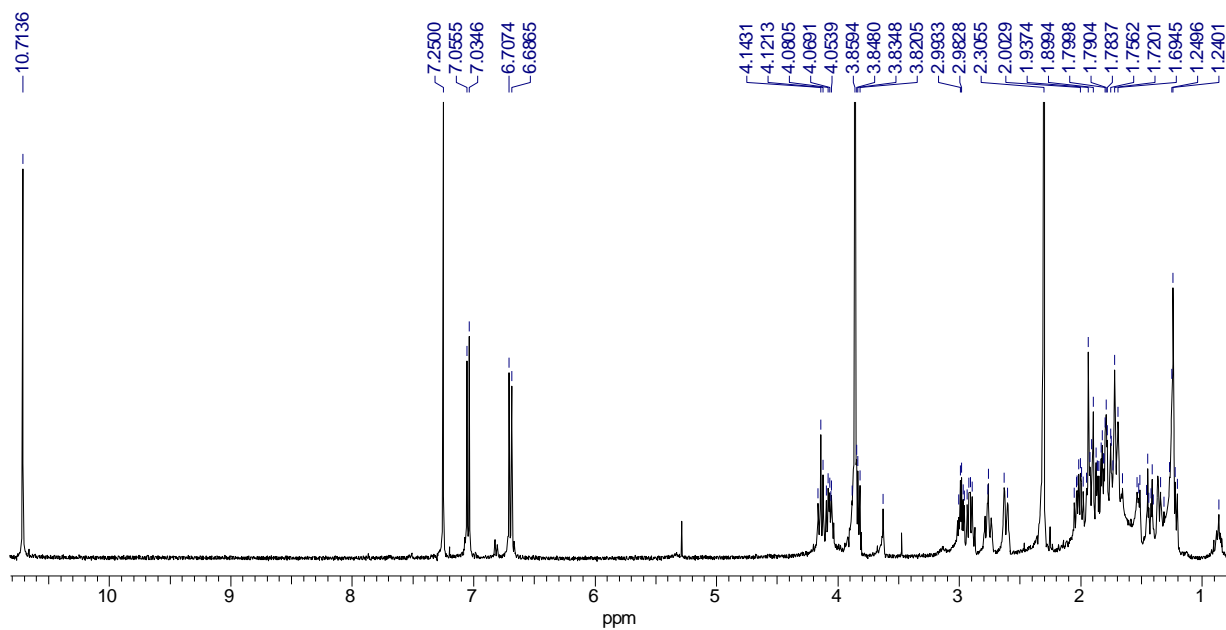


Figura 05. Espectro de RMN de ^1H de Aspidolimidina

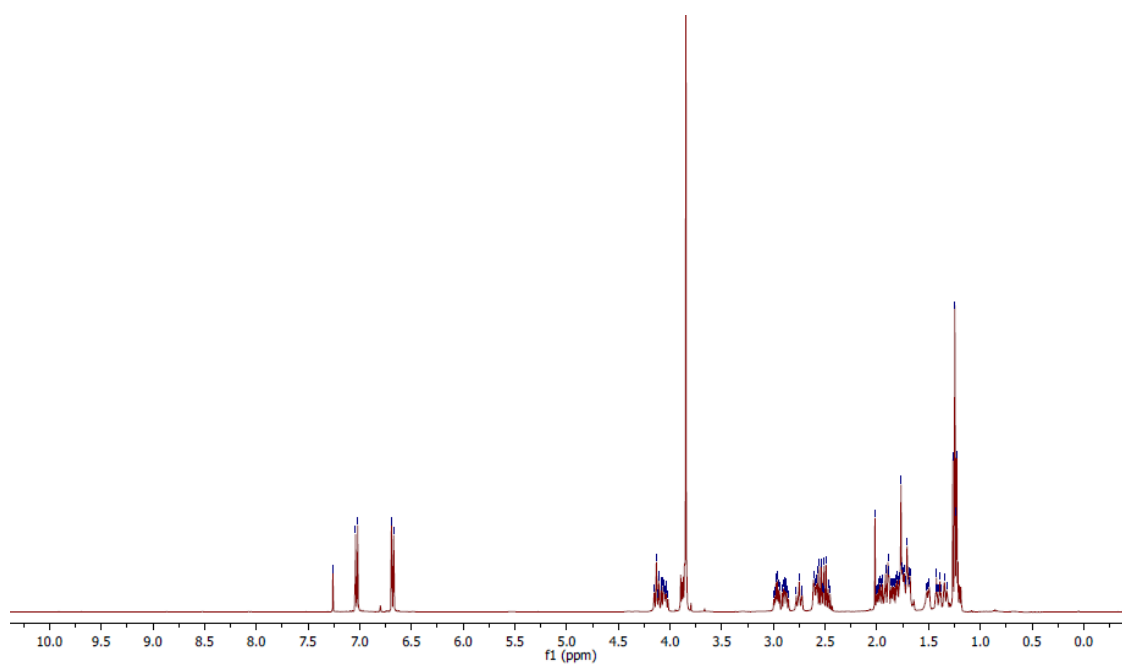


Figura 06. Espectro de RMN de ^1H de Flenderina

Tabla 2. ^1H , ^{13}C , HSQC, DE ASPIDOLIMIDINA Y FLENDERINA

ASPIDOLIMIDINA			FLENDERINA	
δ ($J_{\text{H-H}}$ en Hz)		HSQC δ	δ ($J_{\text{H-H}}$ en Hz)	HSQC δ
H-2 α 3.83 (m)		70.6 d	3.83 dd (5.6, 10.8)	69.9 d
H-3 A 2.76 dd(2.4, 11.3)		43.9 t	2.73 t (11.3)	44.3 t
H-3B 2.60 da(11.0)		43.9 t	2.61 (m)	44.3 t
H-5A 2.98 (m)		48.8 t	2.96 (m)	49.1 t
H-5B 2.91 (m)		48.8 t	2.90 (m)	49.1 t
H-6A 2.01 (m)		36.6 t	2.02-1.68 (m)	36.8 t
H-6B 1.81 (m)		36.6 t	2.02-1.68 (m)	36.8 t
		57.5 s (C-7)		57.9 s
		132.4 s (C-8)		132.8 s
H- 9 7.05 d (8.3)		114.6 d	7.04 d (8.3)	114.9 d
H-10 6.70 d (8.4)		110.3 d	6.68 d (8.4)	110.3 d
		149.5 s (C-11)		149.9 s
		137.1 s (C-12)		137.7 s
		128.0 s (C-13)		128.7 s
H-14A 1.73 (m)		21.0t	1.52 (m)	21.4 t
H-14B		21.0 t	1.75 (m)	21.4 t
H-15A 1.73 (m)		32.9 t	2.02-1.68 (m)	33.4 t
H-15B 1.34 da (9.8)		32.9 t	2.02-1.68 (m)	33.4 t
H-16A 1.76 (m)		24.9 t	2.02-1.68 (m)	25.4 t
H-16B 1.76 (m)		24.9 t	2.02-1.68 (m)	25.4 t
H-17A 1.90 (m)		26.4 t	1.80-191 (m)	26.8 t
H-17B 1.43dt (3.4, 13.8)		26.4 t	1.42 dt (3.5, 13.8)	26.8 t
H-18A 4.14 t (8.5)		65.2 t	4.16 t (8.4)	65.5 t
H-18B 4.05 (m)		65.2 t	4.05 (m)	65.5 t
H-19A 1.90 (m)		34.5 t	2.02-1.68 (m)	34.8 t
H-19B 1.23 (m)		34.5 t	1.29 (m)	34.8 t
		39.7 s (C-20)		40.1 s
		101.7 s (C- 21)		102.1 s
		168.9 s (C-12)		172.5 s
H-23 2.30 (s)		22.9 q (C-23)	2.53 (m)	28.7 t
H-23 B			2.48 dq (7.5, 15.2)	28.7 t
H-24 3.86 (s)		56.4 q (C- 24)	1.23 t (7.5)	10.2 q
H-25			3.85 (s)	56.7 q
OH 10.71 (s)			10.80 (s)	

4.5. CONCLUSIONES.

1. El género *Aspidosperma* se caracteriza por sintetizar alcaloides indólicos y bisindólicos de diferentes tipos y subtipos.
2. De *Aspidosperma camporum* **Müll Arg** (*Quillobordon*) se han aislado 06 alcaloides.
3. Se determinó la estructura química de 03 alcaloides dos alcaloides: Aspidolimidina y Flenderina del tipo plumerano y un alcaloide 10-metoxidesacetilakuammilina tipo corinanteano.

4.6 . RECOMENDACIONES.

1. Realizar estudios bioguiados sobre esta especie (*Aspidosperma camporum*), para determinar su actividad biológica.
2. Comparar los alcaloides aislados de la corteza de *Aspidosperma camporum* (Quillobordon), con los aislados de otros órganos de la especie en estudio.
3. Completar la determinación de la estructura química de los alcaloides no identificados (03) lo que permitirá conocer con mayor certeza los tipos de alcaloides presentes en esta especie.
4. Adquisición de equipos de última generación tales como IR, RMN, ^1H , ^{13}C , entre otros para de este modo simplificar y facilitar la determinación estructural y por consiguiente la obtención de resultados concretos a las instituciones que hacen investigación.

4.7 . REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. A.C. Mitaine, B. Weniger, M. Sauvain, E. Lucumi, R. Aragon and M. Zeches-Hanrot. **1998**. *Planta Medica*, 64, 487.
2. Allpahuayo- Mishana. Ed. Missouri Botanical Garden. 1997. IN USA.
3. Análisis de la situación de salud de la Región Loreto año (2007). Dirección Ejecutora del Centro de Prevención y control de Enfermedad Dirección de Epidemiología DISA-Loreto (2008).
4. Ángel Muñoz, 2008. Historia de los alcaloides. De EcuRed. "<http://www.ecured.cu/index.php/Alcaloide>"
5. Azcón-Bieto, J y Talón, M. (2000). Fundamentos de Fisiología Vegetal. Mc Graw Hill Interamericana de España SAU. ISBN 84-486-0258-7
6. Brandao, M. Survey of medicinal plants used as antimalarials in the Amazon. *Journal of Ethnopharmacology*; (1992). 36(2):175-182.
7. Brands, S.J. (comp.) 1989-present. The Taxonomicon. Universal Taxonomic Services, Zwaag, The Netherlands. Accessed January 15, 2012.
8. Brossi A., Uskokovic M., Gutzwill J., Kretti A. U. and Brene Z. 1970. *Pure Appl. Chem.* 19, 171-185.
9. Bruneton, J. 2001. *Farmacognosia, Fitoquímica Plantas Medicinales*. 2da Edición, Editorial Acribia. S.A. Zaragoza- España.
10. Bruneton, J. "Eléments de Phytochimie et de Pharmacognosie" Ed. Technique et Documentation (Lavoisier), 1987.

11. BUTTERFIELD D. et. Al., 2002. Nutritional approaches to combat oxidative stress in Alzheimers disease. *J Nut Biochem*. 444-61 pp.
12. C. Mitaine-Offer; M. Sauvain; A. Valentin; J. Callapa; M. Mallié and M. Zèches-Harnot. **2002**. *Phytomedicine*, 9, 142.
13. Cáceres, A. Plantas de uso Medicinal en Guatemala. Primera Edición. Editorial Universitaria. Guatemala; (1996). p.402.
14. Cordell, G.A., Quinn- Beattie, M.L., Farnsworth, N.R. 2001. *Phytoterapy Research* 15, 183-205.
15. Deharo, E.- Ph Gautred- . Muñoz- M.2000. Técnicas de Laboratorio para la selección de Sustancias Antimaláricas. 1era Edición. Bolivia. Pp. 62-63.
16. Dellar G., Djura P. y Sargent M. V., *JCS Perkin I*, 1679 (1981).
17. DewicK P., Medicinal Natural Products, John Wiley and Sons, N. Y., Cap. 6 (1998).
18. Dijkstra G., et al. Conformational Study of Cinchona Alkaloids. A Combined RMN and Molecular Orbital Approach. *Phytochemistry*; 1990.Vol. 55. N° 25. pp 6121-6131.
19. DISA-Loreto. Semana Epidemiológica 15. Boletín Epidemiológico.; 2003.
20. DISA-Loreto, Semana Epidemiológica 10. Boletín Epidemiológico.; 2004.
21. Ducke, J.A.& Vasquez M.R. 1994, Amazonian Ethnobotanical Dictionary, CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, USA, pp.215.

- 22.** Evans, W.C. “Trease and Evans -Pharmacognosy“, 15TH ed. Ed. Saunders, Edinburgh, 2000.
- 23.** Ferreira, I., Leon, L., Gobbi Filho, L., Lonardoni, M., Silveira, T., Machado, G. & Oliveira, A., (2004). Antileishmanial activity of alkaloidal extract from *Aspidosperma ramiflorum*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. Vol. 99, pp. 325–327.
- 24.** Fleynicg Ian, Dudley H. Williams. 1974. “Método Espectroscópico en Química Orgánica”. URNG. S.A España. Peter K. Volhardt C. 1992. “Química Orgánica”, Edición Omega, S.A. España.)
- 25.** Flores J. “Farmacología Humana” Ed. Masson- Salvat Medicinal. 2da Ed. 1992.
- 26.** G. Subramaniam, Osamu Hiraku, Masahiko Hagashi, Takashi Koyano, Kanki Komiyama, and Toh-Seok Kam. (2007) Biologically Active Aspidofractinine, Rhazinilam, Akuammiline, and Vincorine Alkaloids from *Kopsia*.
- 27.** Gilbert, B.; Brissolèse, J. A.; Wilson, J. M.; Budzikiewicz, H; Lois J. Durham and Djerassi, C. **1962**. *Chemistry and Industry*, 1949.
- 28.** Gonzales *et al.* Uso de plantas medicinales para el tratamiento de malaria, en dos distritos de la provincia de Maynas. Loreto-Perú. *Conocimiento*; 2000.6 (1): 109-23.
- 29.** González-Coloma A, Reina M, Sáenz C, Lacret R, Ruiz-Mesía L, Arán VJ, Sanz J, Martínez-Díaz RA. 2011. Antileishmanial, antitrypanosomal and cytotoxic screening of ethnopharmacologically selected Peruvian plants. *J. Ethnopharmacol.* (En prensa).
- 30.** Gros.Eduardo G. “Introducción al Estudio de los Productos Naturales”. (1985).

- 31.** Henrique, M. C.; Nunomura, S. M. & Pohlit, A. M. (2010). Alcaloides indólicos de cascás de *Aspidosperma vargasii* A. *desmanthum*. *Química Nova*, 33, 284-287.
- 32.** Heywood, V. H. 1985. Las plantas con flores. Ed. Reverté. España. 329 pp.
- 33.** J. Organic Chemistry, volumen 53(6), t 298-1307, 1988.
- 34.** Jiménez, T. A., Búsqueda, Obtención y Evaluación de Nuevos Antiparasitarios. Programa CYTEC. Panamá; 1999. Pp 105.
- 35.** JHONS T., WINDUST A., JURGENTS T., MANSOR., (2011). “Alcaloides antimaláricos aislados de *Annonas quamosa*” *Fitofarmacología*, vol. 1. Pag. 49-53.
- 36.** Keit S. Brown, Jr.,Wolfgango E. Sanchez L., antonio de A . Figuieredo, and Joaquin M. Ferreira Filho, **1966**, *Journal of the American Chemical Society*, 88:21, 4984-4989.
- 37.** Kuklinski, C. 2000.Farmacognosia, Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural, Edición Omega, Barcelona. Pp 167-182.
- 38.** Koshinen A., en *Asymmetric Synthesis of Natural Products*, John Wiley and Sons, N. Y., Cap. 10 (1995).
- 39.** Liliana Ruiz Vásquez, Martha Milagros Maco Lujan, Evaluación antimalárica *in vitro* y tamizaje fitoquímico de 20 especies vegetales en la Cuenca del Rio Nanay (2007). Laboratorio de Investigación de Productos Naturales antiparasitarios de la Amazonía N° pag. 285.
- 40.** Lorenzi, H. 1992. Árvores brasileiras. Editora Plantarum, Nova Odessa.

41. Lock de Ugaz, O. "Investigación Fitoquímica - Métodos en el estudio de productos naturales -". Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial, 1994.
42. Luz María Loo Palomino*, Gilda Dacosta** y Martín Daza*** **Malaria por *Plasmodium vivax* en Moronacocha (Iquitos).**
43. M. Maco. 2007, L. Ruíz "Búsqueda y obtención de nuevos compuestos en la Amazonía LIPNAA
44. Mejía y Rengifo. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía Peruana. Segunda edición. Agencia española de Cooperación Internacional; (2000). Pp 284.
45. Miguel Urrea, Alain Ahond, Henri Jacquemin, Siew-KwongKan, Christiane Poupat, Pierre Potier, et Maurice-Marie Janot. 1978. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 287 (3), 63.
46. Muñoz V, Sauvain M, Bourdy G, Callapa J, Rojas I, Vargas L, Tae A, Deharo E. 2000. The search for natural bioactive compounds through a multidisciplinary approach in Bolivia. Part II. Antimalarial activity of some plants used by Moseceneindians. *Journal of Ethnopharmacology* 69, 139–155.
47. Nery m. Perez ^a, Fatima B. Torrico^b, Abelardo Morales ^c. *Journal of Ethnopharmacology* 143 (2012) 599-603. Acute toxicity, antinociceptive activity and indole alkaloids of aqueous extract from bark of *Aspidosperma cuspa* (Kunth) Blake
48. Neuss, N. 1962. *Physical Data of Indole and Dihydroindole Alkaloids*. Lilly, Indianapolis Savaskan, S.; Kompis, I.; Hesse, M. and Schmid, H. 1972. *Helvetica Chimica Acta*, 55, 2861.

- 49.** Oliveira, V. B.; Freitas, M. S. M.; Mathias, L.; Braz-Filho, R. &Vieira, I. J. C.; (2009). Atividade biológica e alcalóides indólicos do género *Aspidosperma* (Apocynaceae): umarevisão. *Rev. Bras. Pl. Med.*, 11, 92.
- 50.** Paris, M. et M. Hurabielle “Abrégé de Matière Médicale - Pharmacognosie”, tomo 1, y tomo 2. Ed. Masson. París, 1981.
- 51.** Pine H. Stanley, B. Hendrickson James, J. Cram Donald, S. Hammondm George. 1982. “Química Orgánica”, IV Edición Edit. Mc. Graw – Hill. México).
- 52.** Potgieter, K. & Albert, V.A. 2001. Phylogenetic Relationships within Apocynaceae. I. Based on trnL Intron and trnL-F Spacer Sequences and Propagule Characters. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 88: 523-549.
- 53.** Ramal, C.; Vargas, J.; Aramburu, J. Epidemiología de la Malaria en la Región Loreto, Año. Libro de resúmenes de Trabajos Libres. VI Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. SPEIT; (1999); 1997; Agosto. P85.
- 54.** Rengifo 1999. “Plantas Medicinales Utilizadas para el tratamiento de la Malaria” IIAP, pp 75-76.
- 55.** Renjifo E. et al. (2001), INFORME ANUAL 2001 PROYECTO CONJUNTO IIAP-UNAP UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA FACULTAD DE INGENIERIA QUÍMICA-LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES.
- 56.** Robinson, T. “The organic constituents of Higher Plants” Editorial Cordus press, North Amherst, 1983.

- 57.** Rodríguez, M. Tendencia de la Malaria y su relación con la variable de tiempo en la ciudad de Iquitos 1995 -2001. Tesis para optar el título de Enfermero-UNAP. Iquitos; (2002).
- 58.** Rose Lesieux R. Paiva Jácome y Alcúde Braga de Oliveira (2004) *Química. Nova*, Vol.27. N°6, 897-900.
- 59.** Ruíz Mesía¹, W. Ruíz Mesía^{1*}, J. M. Rios Rios¹, L. Arévalo Encinas¹, M. Reina Artiles², A. Gonzalez Coloma³, R. A. Martínez Diaz⁴. BÚSQUEDA DE PRINCIPIOS ACTIVOS ANTIPARASITARIOS EN PLANTAS DE USO TRADICIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA. ESPECIAL ENFASIS EN ALCALOIDES INDOLICOS. *Ciencia Amazónica*, 2012, Vol. 2, No. 2, 116-123
- 60.** Saavaskan, S.; Kompis, I.; Hesse, M. and Schmid, H. **1972.** *Helvetica Chimica Acta*, 55, 2861.
- 61.** Shamma M. y D.M. Hindenlang “Carbon-13 NMR shift assignments of amines and alkaloids. Plenum Press, NY, 1979.
- 62.** Tanaka JCA, Silva C.C., Dias F., B.P., Nakamura C.V. & Oliveira A.J.B. (2006). Antibacterial activity of indole alkaloids from *Aspidosperma ramiflorum*. *Braz J Med Biol Res* 39: 387-391.
- 63.** V. Roumy, G. Garcia-Pizarro, A. L. Gutierrez-Choquevilca, L. Ruiz, V. Jullian, P. Winterton, N. Fabre, C. Moulis and A. Valentin. *Journal of Ethnopharmacology* **2007**. Pag 1-8.
- 64.** Vásquez Martínez Rodolfo “Flórula de las Reservas Biológicas de Iquitos, Perú”.
- 65.** Víctor M. Loyola-Vargas*, Patricia Sánchez-Iturbe, Blondy Canto-Canché, Luis C. Gutiérrez-Pacheco, Rosa M. Galaz-Ávalos y Oscar Moreno-Valenzuela Biosíntesis de los alcaloides indólicos. Una revisión crítica. Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Calle 43 No. 130, Colonia Chuburná de Hidalgo, CP 97200, Mérida.

- 66.** VILLAR, L., VILLAVICENCIO O. (2001). Manual de fitoterapia. Organización panamericana de la salud. EsSalud-Lima.7-8pp.
- 67.** Vilma B. Oliveira, Ivo J. CurcinoVieria, R. Braz- Filho, Leda Mathias, Norberto P. Lopes, Anonio E. M. Crotti and Daniel E. de A. Uchoa.(2009) Spruceanumines A and B, Novel Plumeran Indole Alkaloids from *Aspidosperma spruceanum* (Apocynaceae).
- 68.** VINCENT ROUMY, (2007). “Estudio Fitoquímico de plantas Amazonicas con Actividad Antimalárica DON'T PSEUDOXANDRA CUSPIDATA Maas ET TAPIRIBA GUIANENSIS Aulbl” Tesis de Doctorado en Farmacognosia. L, institut National Polytechnique De Touoluse. Touoluse.
- 69.** Volhardt C. Peter K. 1992. “Química Orgánica”, Edición Omega, S.A. España.
- 70.** Wingrover Alans, Robert L. Caret. 1984. “Química Orgánica”, Edit. KARLA. México.
- 71.** Witkop B., *Heterocycles*, 49, 9 (1998). (b) Houghton P. J., Ren Y. y Howes M. J. *Nat. Prod. Rep.*, 23, 181 (2006).
- 72.** WOODSON, R.E.Jr 1951. *Aspidosperma polyneuron*. In: Flora of Panamá. Ann. Missouri Bot. Gard. 38:158-160.
- 73.** Zocoler, M.A., Oliveira, A.J.B., Sarragiotto, M.H., Grzesiuk, V.L. &Vidotti, G.J., (2005). Qualitative determination of indole alkaloids of *Tabernaemontana fuchsiaefolia* (Apocynaceae). *J. Braz. Chem. Soc.* 16, 1372—1377.

ANEXOS

ANEXO N° 01. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA



ASP. CAMPORUM



CORTEZA DE A. CAMPORUM



IDENTIFICACION BOTANICA



PESADO



MOLIENDA



SECADO



MACERADO



EXTRACCIÓN



EXTRACTOS

ANEXO N° 02. MARCHA ALCALOIDAL



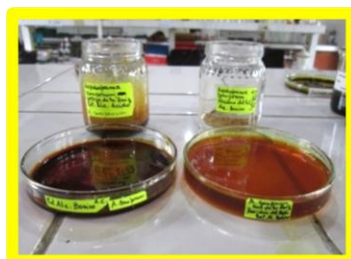
EXTRACTOS



AGITADOR



FILTRACION



EXT. ALC. ACIDO Y BASICO

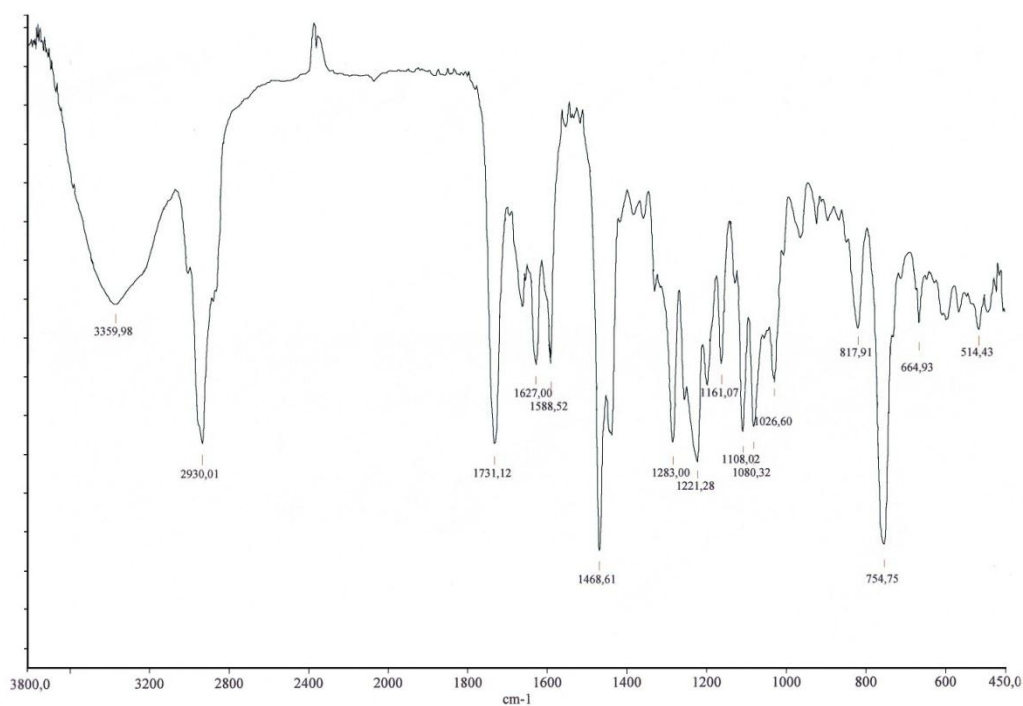


EXTRACCION DE ALCALOIDES

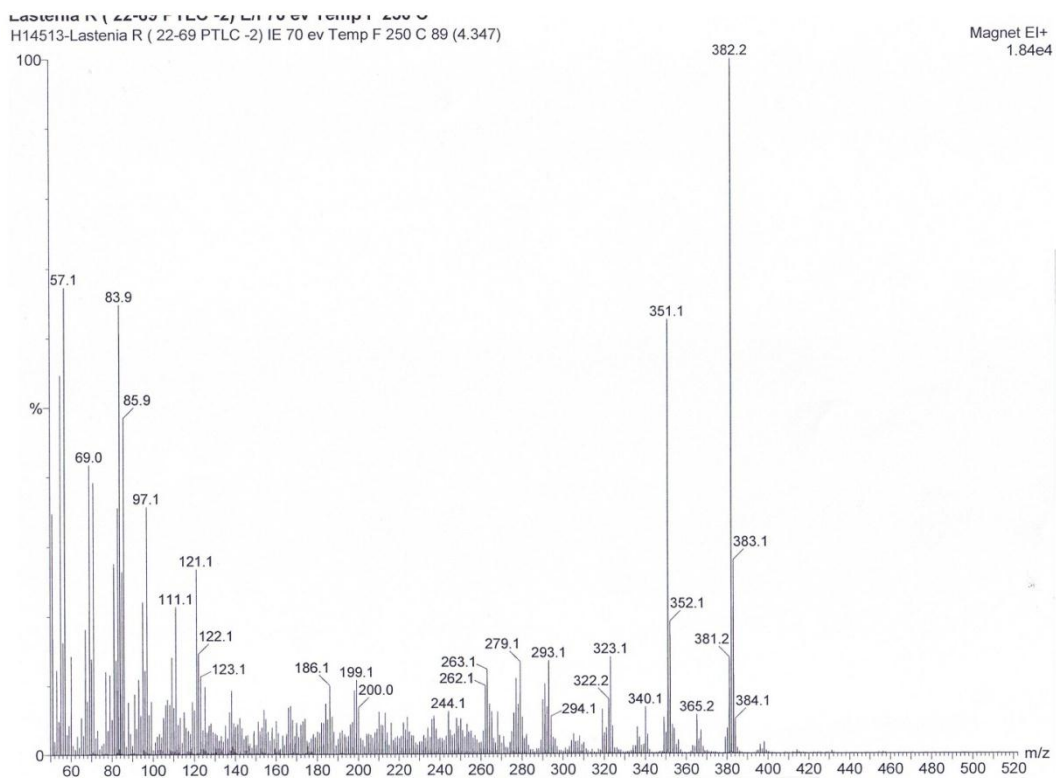


FILTRADO

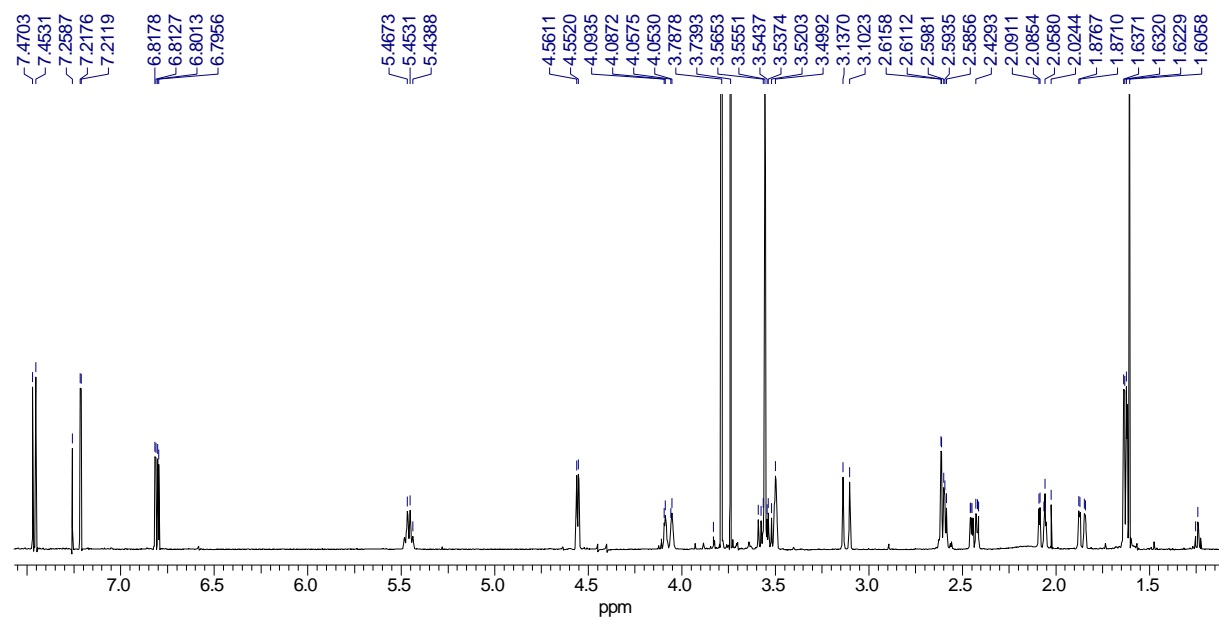
ANEXO N° 03. Espectro de IR de ¹H 10 -Metoxidesacetilakuamilina



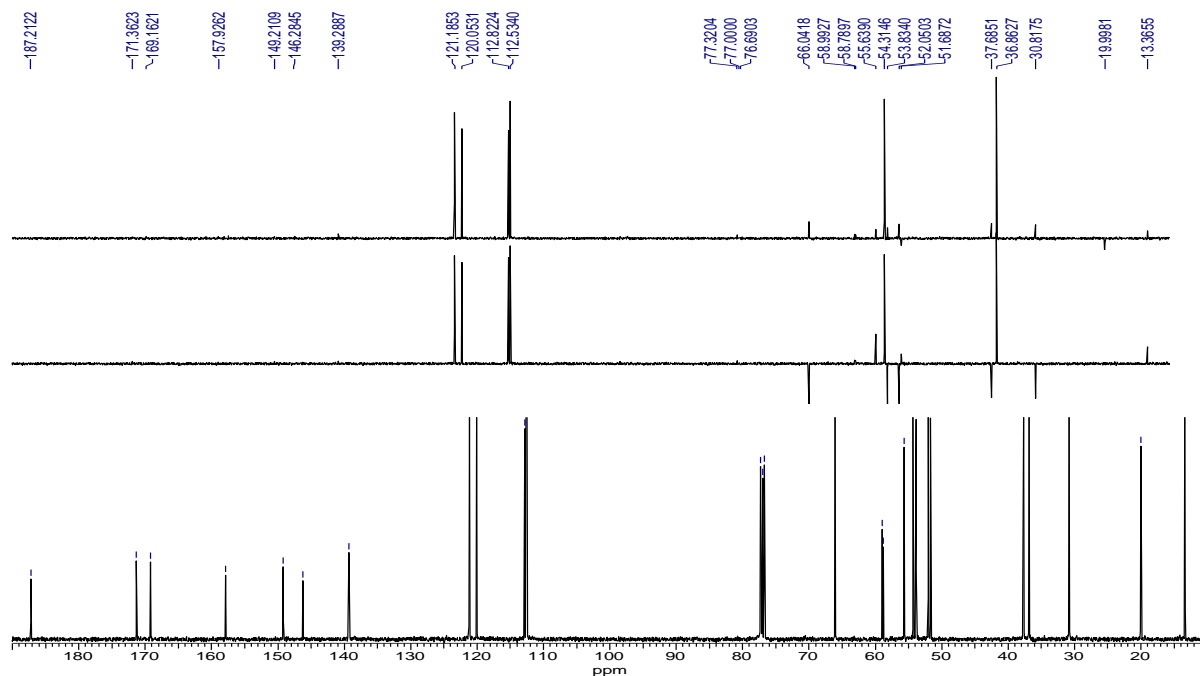
ANEXO N° 04. Espectro de EM de ¹H 10 -Metoxidesacetilakuamilina



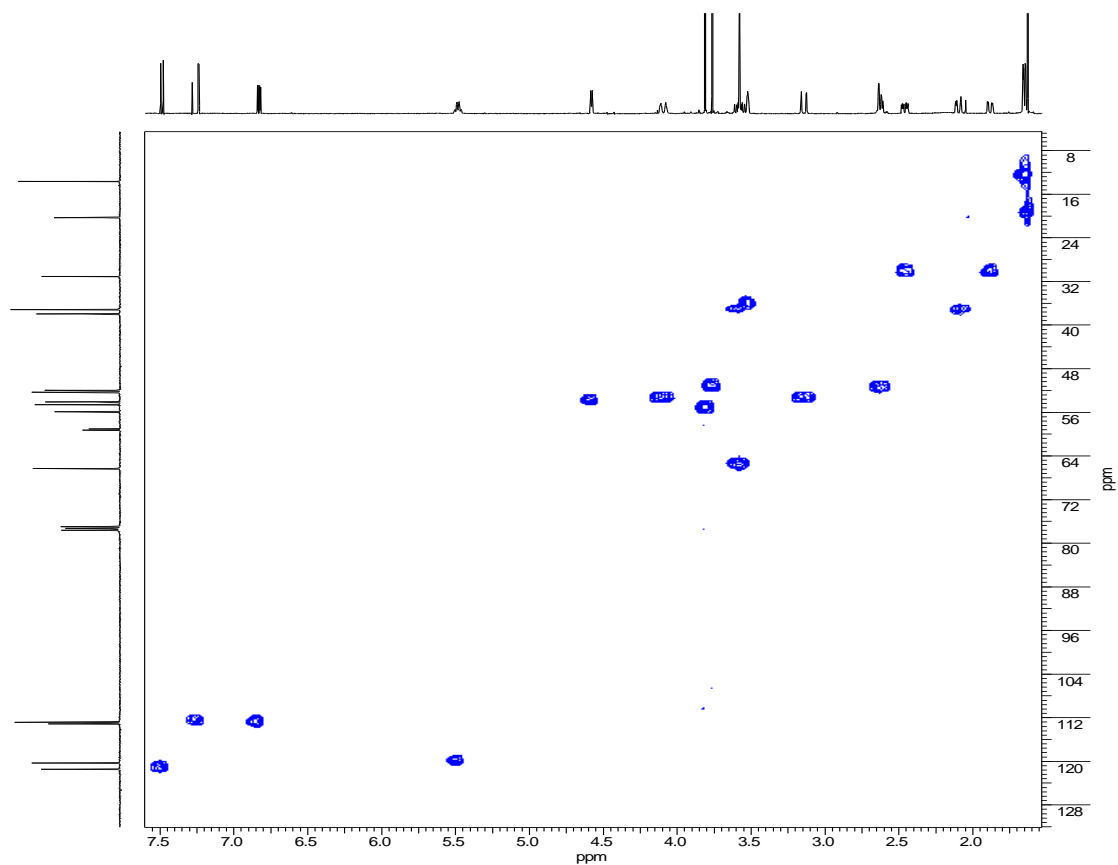
ANEXO N° 05. Espectro RMN de ¹H 10 –Metoxidesacetilakuamilina



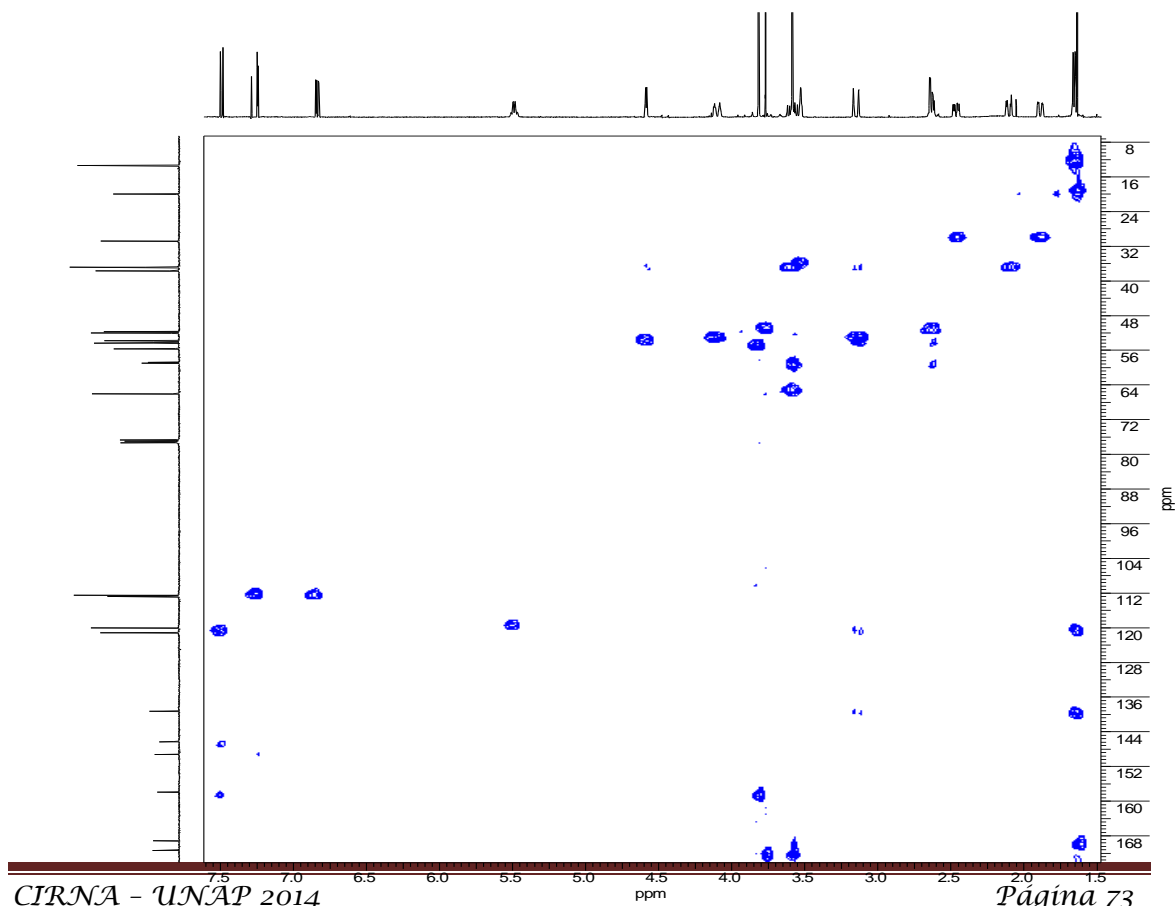
ANEXO N° 06. Espectro RMN de ¹³C de 10- Metoxidesacetilakuamilina



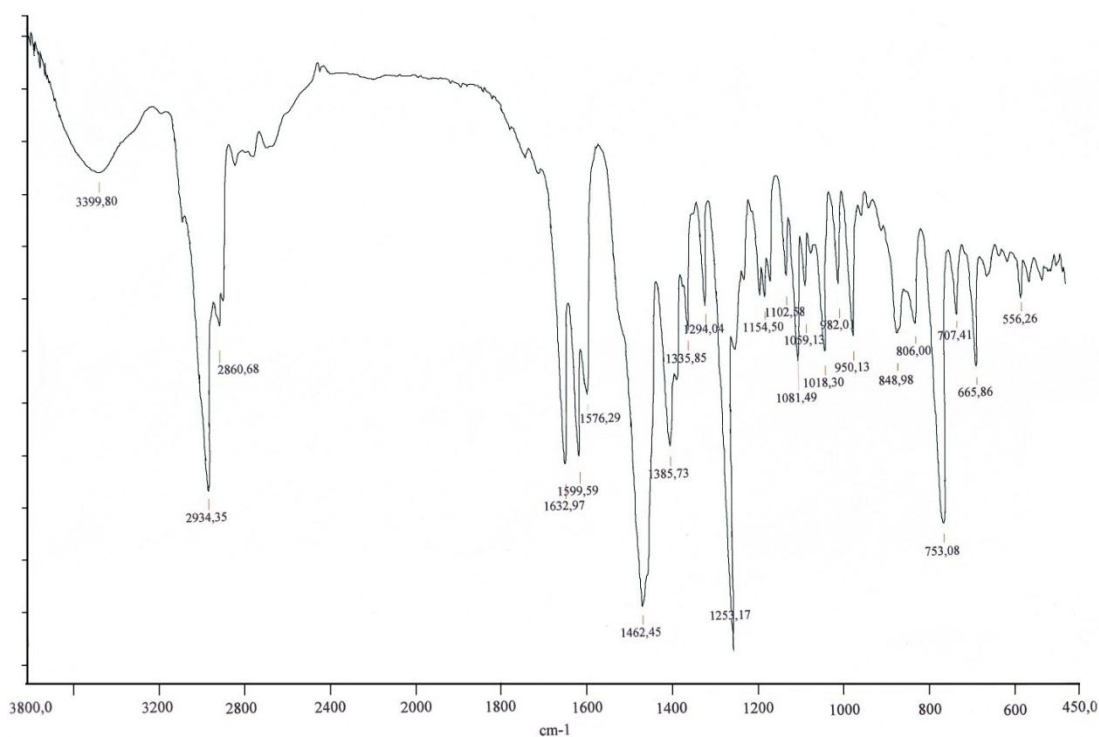
ANEXO N° 07. HSQC 10 - Metoxidesacetilakuamilina



ANEXO N° 08. HMBC 10- Metoxidesacetilakuamilina



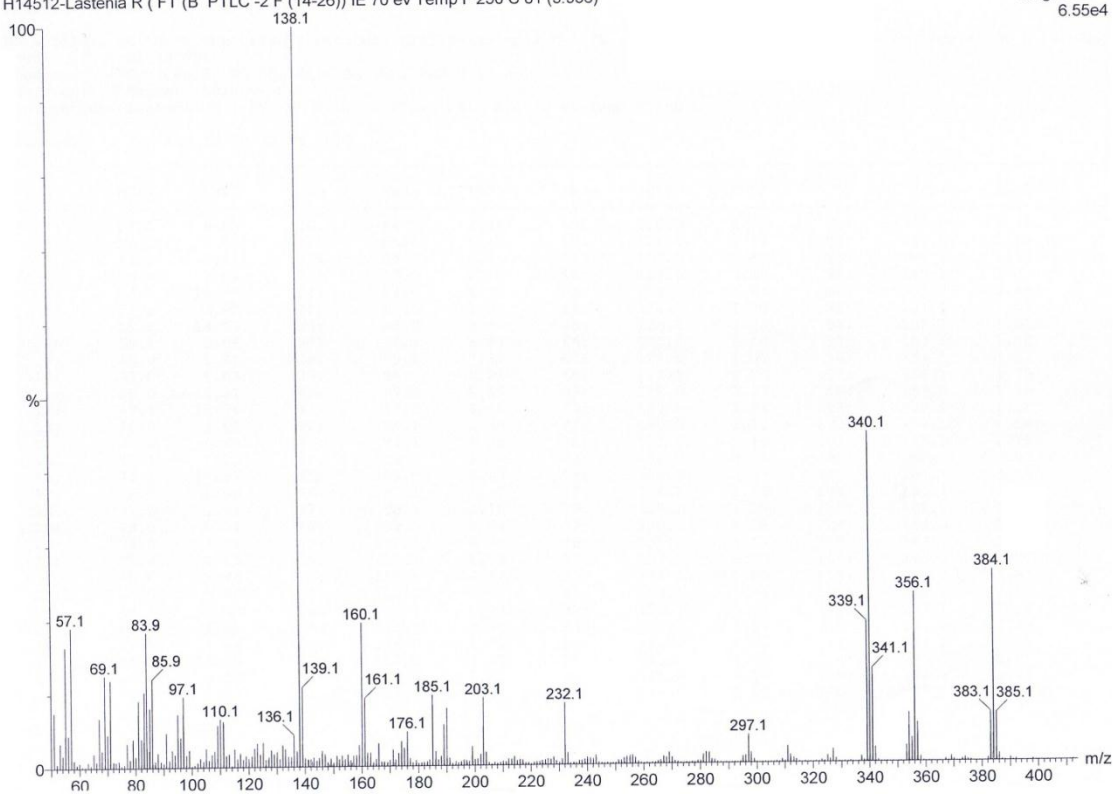
ANEXO N° 09. Espectro de IR de Aspidolimidina



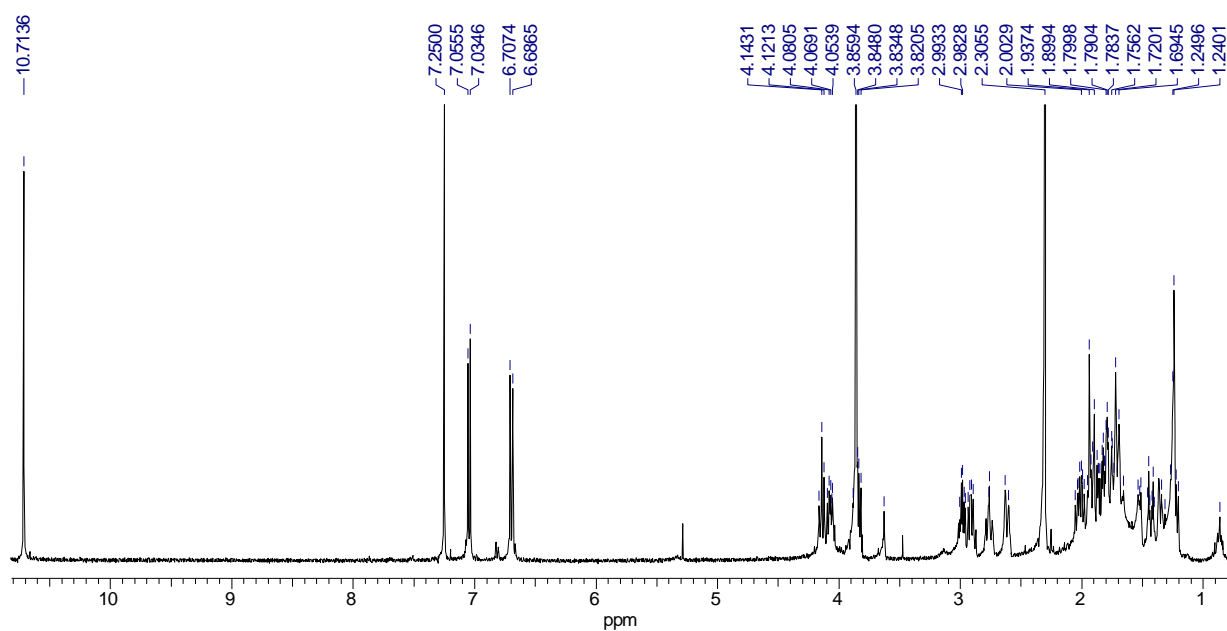
ANEXO N° 10. Espectro de EM de Aspidolimidina

Lastenia R (FT (B PTLTC -2 F (14-26)) E/I 70 ev Temp F 250 C
H14512-Lastenia R (FT (B PTLTC -2 F (14-26)) IE 70 ev Temp F 250 C 81 (3.956)

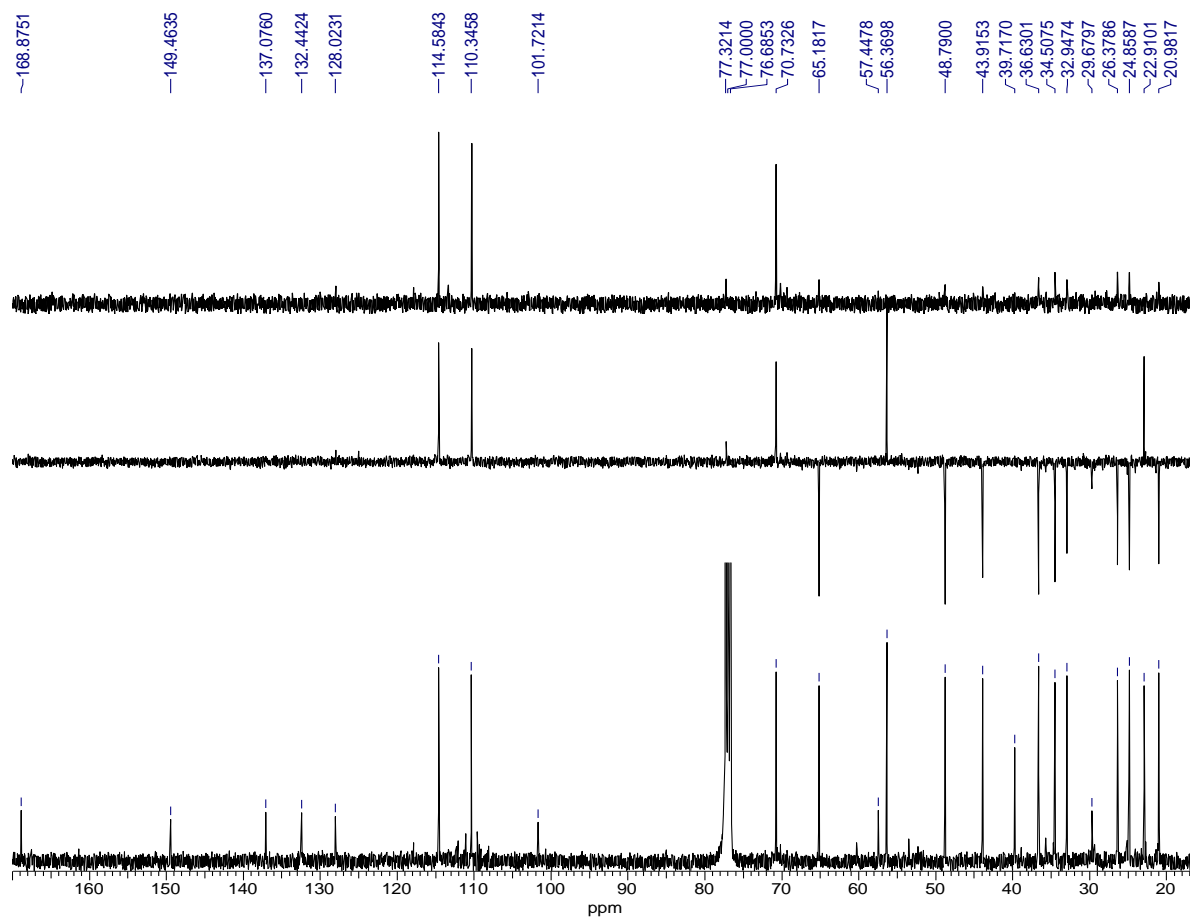
Magnet EI+
6.55e4



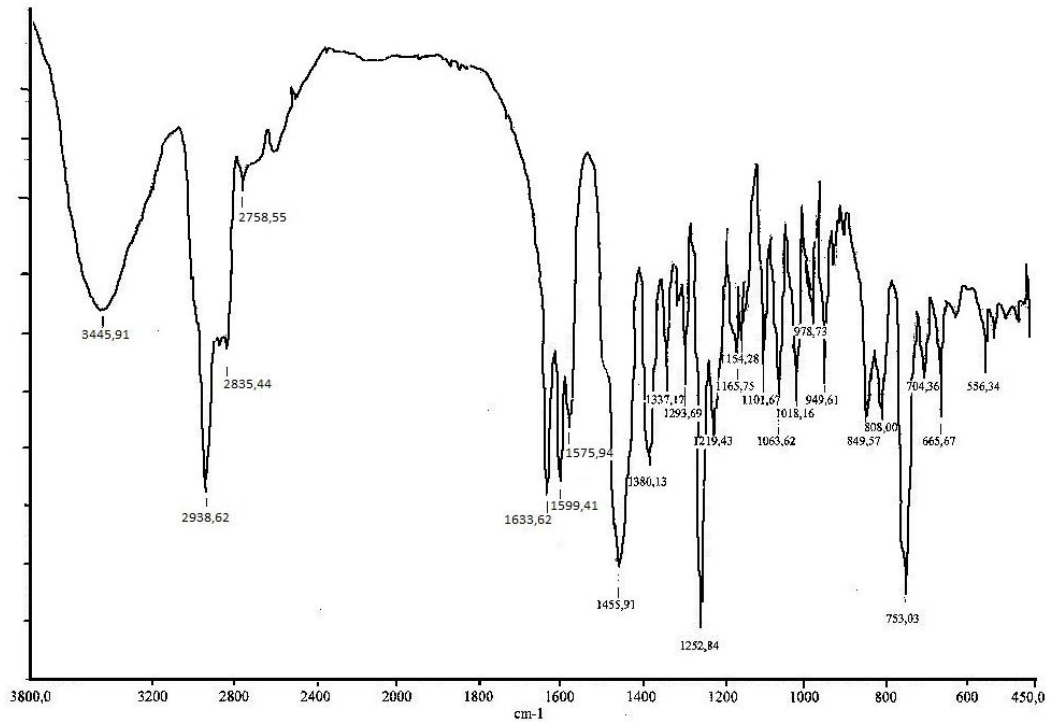
ANEXO N° 11. Espectro RMN de ^1H de Aspidolimidina



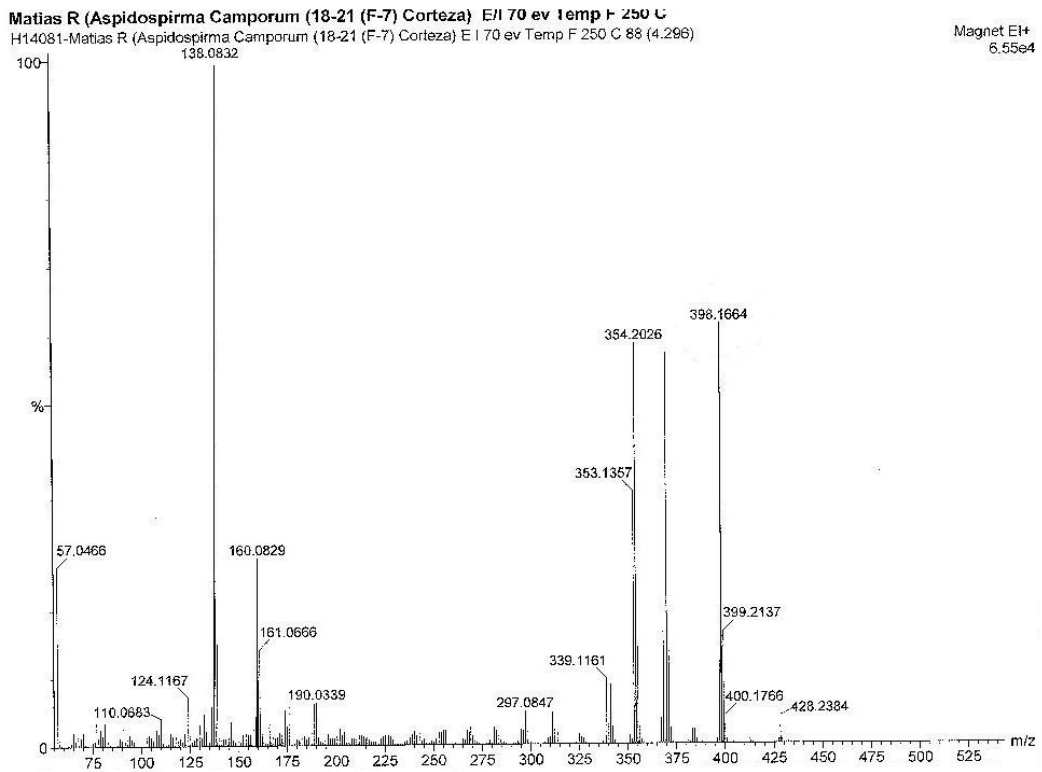
ANEXO N° 12. Espectro RMN de ^{13}C de Aspidolimidina



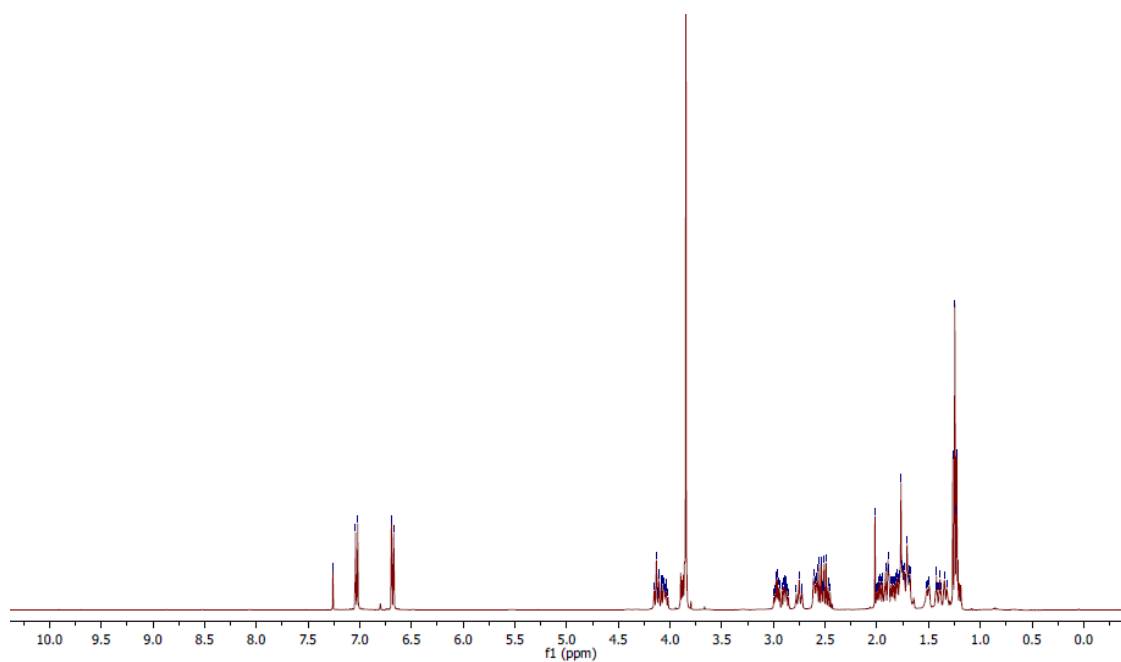
ANEXO N° 13. Espectro de IR de Flenderina



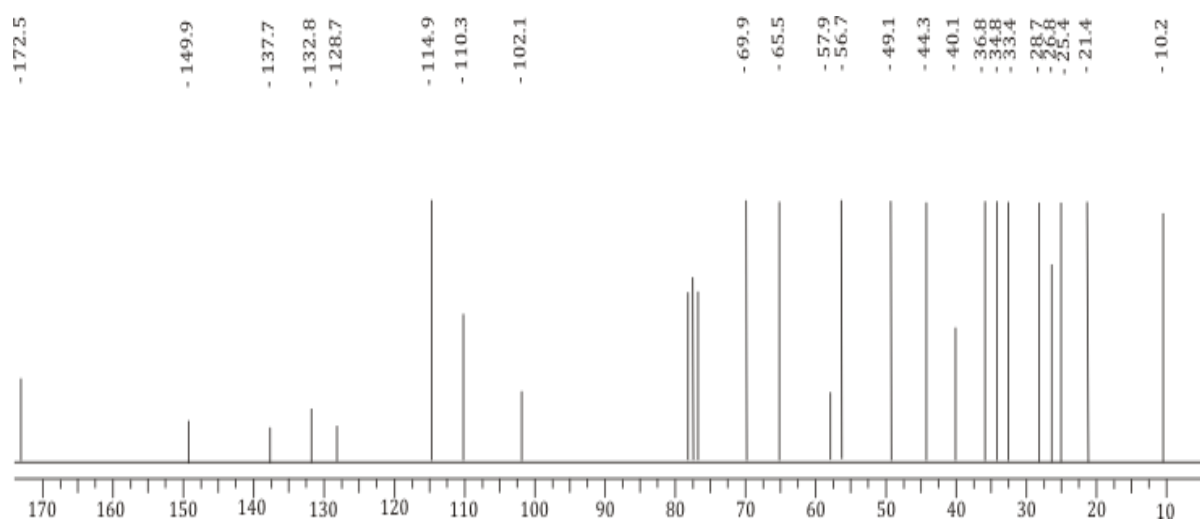
ANEXO N° 14. Espectro de EM de Flenderina



ANEXO N° 15. Espectro RMN de ^1H de Flenderina



ANEXO N° 16. Espectro RMN de ^{13}C de Flenderina



ANEXO N° 17. HSQC de Flenderina

