

## **OPTIMAL CONDITIONS FOR OXIDIZING PHENOL IN WATER BY FENTON AND PHOTO-FENTON PROCESSES**

H. A. Blas López<sup>a</sup>, G. H. Lopes<sup>a</sup>, A. C. Silva Costa Teixeira<sup>b</sup>,  
C. E. Flores Barreda<sup>a</sup>, P. A. Pantoja<sup>\*a</sup>

### **ABSTRACT**

Phenol can be degraded to almost 100 % within a few minutes via Fenton and photo-Fenton processes. Its degradation and the ratio of initial molar concentrations of oxidant and catalyst increase in inverse senses, and a ratio of 38.4 was optimal for aqueous solutions contaminated with 20 ppm of phenol. In addition to this, the use of ultraviolet-A light enhanced degradation when compared to shorter wavelengths.

**Key words:** Advanced oxidation, Fenton, photocatalysis, organic pollutants, wastewater, phenol.

## **CONDICIONES ÓPTIMAS PARA OXIDAR FENOL EN AGUA VÍA LOS PROCESOS FENTON Y FOTO-FENTON**

### **RESUMEN**

Fenol puede ser degradado a casi 100 % en pocos minutos vía los procesos Fenton y foto-Fenton. Su degradación y la relación entre las concentraciones molares iniciales de oxidante y catalizador utilizadas aumentan en sentidos inversos, y una relación de 38,4 fue óptima para soluciones acuosas contaminadas con 20 ppm de fenol. Asimismo, el uso de luz ultravioleta del tipo A aumentó la degradación comparado a menores longitudes de onda.

**Palabras clave:** Oxidación avanzada, Fenton, fotocatalisis, contaminantes orgánicos, aguas residuales, fenol.

### **INTRODUCTION**

Phenols are among the most toxic organic pollutants<sup>1</sup>. In Peru, surface waters with phenolic content above 0.003 ppm are not allowed to be made drinkable by simple disinfection<sup>2</sup>. Lakes

---

<sup>a</sup> Department of Chemical Engineering, Universidad de Ingeniería y Tecnología (UTEC), Jr. Medrano Silva 165, Barranco, Lima 04, Peru, [paraujo@utec.edu.pe](mailto:paraujo@utec.edu.pe).

<sup>b</sup> Department of Chemical Engineering, Polytechnic School, Universidade de São Paulo (USP), Av. Professor Luciano Gualberto, Travessa 3, 380, São Paulo/SP 05508-900, Brazil.

and rivers ought not to surpass 2.56 ppm and coastal waters must be kept below 5.8 ppm<sup>2</sup>. Yet, phenols are major starting compounds in industrial chains leading to major products such as plastics, dyes, binders, adhesives, and biocides<sup>3</sup>.

These non-biodegradable organics may not respond to biological treatment, and their transfer from one phase to another, as for instance in adsorption or flocculation, is not a final solution for their elimination<sup>4,5</sup>. Fortunately, they can be degraded by advanced oxidation processes (AOPs). Nevertheless, AOPs are not broadly used in Peru despite their potential, and little seems to have been published on local attempts<sup>6,7</sup>.

The kinetics of Fenton's AOP is complex and extensively described in the literature<sup>3,4,8,9</sup>. Essentially, a transition-metal ( $\text{Fe}^{2+}$ ) in acidic aqueous medium catalyzes the decomposition of an oxidant ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) into unselective free radicals ( $\text{HO}^\cdot$ ) as in the reaction  $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{HO}^\cdot$ . In turn, these radicals oxidize organic pollutants by generating organic radicals<sup>4,8</sup>. If reactants are present in sufficient concentrations<sup>8</sup>, the organic radicals react with  $\text{HO}^\cdot$  until their complete mineralization to  $\text{H}_2\text{O}$  and  $\text{CO}_2$ . Interestingly, pollutant degradation increases under electromagnetic radiation due to two new phenomena<sup>4,5,10,11</sup>. One is the photo-reduction of  $\text{Fe}^{3+}$  under near-ultraviolet and visible lights, what regenerates  $\text{Fe}^{2+}$  and form new (pollutant) radicals  $\text{L}^\cdot$  according to the reaction  $\text{Fe}^{3+} + \text{L} + h\nu \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{L}^\cdot$  (where  $h$  represents Planck's constant and  $\nu$  is the wave frequency). The other is the photolysis of  $\text{H}_2\text{O}_2$  under ultraviolet irradiation to give more  $\text{HO}^\cdot$  radicals as represented by the reaction  $\text{H}_2\text{O}_2 + h\nu \rightarrow 2 \text{HO}^\cdot$ . This process is therefore termed photo-Fenton.

The multistep kinetics of the  $\text{Fe}^{2+} / \text{H}_2\text{O}_2$  chemistry is affected by numerous experimental factors. For this reason, the reaction time, the pH, the relative concentrations of pollutant, oxidant and catalyst, the temperature, the wavelength and other conditions are optimized experimentally<sup>4,8-14</sup>. A consensus seems to have been reached for pH only. Indeed, more  $\text{Fe}^{2+}$  and less of unreactive, non-dissolvable precipitates of ferric (oxy)hydroxides are formed below pH 3, but scavenging of  $\text{HO}^\cdot$  by  $\text{H}^+$  combined with unfavorable iron speciation and auto-decomposition of  $\text{H}_2\text{O}_2$  all reduce pollutant peroxidation below pH 2.8<sup>4,8,9,11</sup>. As for the values recommended for the ratio of initial concentrations of  $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$ , deviations from stoichiometric proportions by one or even two orders of magnitude are reported<sup>9-11,13,14</sup>. Finally, photo-Fenton efficiency is wavelength-dependent<sup>4,5,9-11</sup>.

In the Fenton scheme, phenol is hydroxylated to hydroquinone and then oxidized to quinone before its further oxidation to aliphatic acids<sup>4,12</sup> which are relatively stable towards  $\text{HO}^\cdot$  unless irradiated. Under irradiation,  $\text{Fe}^{3+}$  catalyzes light-induced reactions which eventually enhance mineralization<sup>4,12</sup>. The current work presents an experimental method and optimal conditions for degrading phenol in diluted aqueous solutions and contributes to consolidating the application of AOPs in Peru.

## EXPERIMENTAL

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 % in mass, J. T. Baker) at 0.3 mol L<sup>-1</sup> and FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (99 % purity, Scharlau) at 0.1 mol L<sup>-1</sup> previously dissolved in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98 %, J. T. Baker) at 0.1 mol L<sup>-1</sup> were used. Phenol (99.6 % purity, J. T. Baker) at 20 ppm was the target solution. NaOH (99 % purity, Macron) in aqueous solution at 1 mol L<sup>-1</sup> was added to analytical samples for inhibiting phenol degradation and so allowing for analyses to be performed. Degradation experiments were carried out in a magnetically stirred photochemical batch reactor (RFS-500, Alphatec, Brazil) of volume of 1 L equipped with a jacket for temperature control and a pH meter. For photo-Fenton tests, the reactor's tubular ultraviolet-A or ultraviolet-C lamp (9 W, OSRAM, South Korea) or ultraviolet-B (9W, Philips, Poland) was turned on. Phenol was quantified in all samples via the 4-aminoantipyrine colorimetric method<sup>15</sup> with help of an ultraviolet-visible spectrophotometer (UV-2600, Shimadzu, Japan).

For each test, 1 L of phenol solution was added to the reactor. Small volumes of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at 50 % helped keep pH at 2.91 ± 0.02. Then, the desired amounts of catalyst and oxidant solutions were added all at once and the mixture let react at ambient temperature under vigorous stirring and isolated from ambient light. Experiments were repeated at least 3 times. Four samples of 10 mL were analyzed per test; they corresponded to reaction times of 0, 2, 5 and 10 minutes. A total of 100 µL of the inhibitor solution was systematically added to each sample immediately after its removal from the reactor in addition to the solutions necessary for the colorimetric analyses. Analytes would then rest for 15 minutes before being analyzed spectrophotometrically at 500 nm (wavelength determined during previous calibration).

## RESULTS AND DISCUSSIONS

Results focus on the percentage of phenol degradation (X), defined as  $X=100 \left( \frac{[C]_0 - [C]}{[C]_0} \right)$ , where [C]<sub>0</sub> is the initial pollutant concentration and [C] is its concentration at any reaction time t. Table 1 synthesizes mean results after 10 minutes of reaction and reveals that all processes under all experimental conditions are very effective in destroying phenol. Furthermore, the table shows that photo-Fenton was able to oxidize the target pollutant up to 9 percentage points more than Fenton at similar operating conditions. Generically, average degradations ranged from 85.3 % to 96.4 % for Fenton and from 91.3 % to 99.7 % for photo-Fenton samples.

**Table 1.** Average phenol degradations after 10 minutes. UV-A wavelengths lie within 400–315 nm, UV-B within 315–280 nm and UV-C within 280–100 nm.

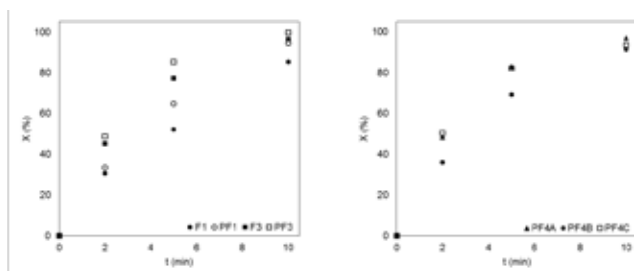
Label	Process	$[\text{Fe}^{2+}]_0$ ( $10^{-5}$ mol L $^{-1}$ )	$[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ ( $10^{-3}$ mol L $^{-1}$ )	$\frac{[\text{H}_2\text{O}_2]_0}{[\text{Fe}^{2+}]_0}$	Light	X (%)
F1	Fenton	5.5	3.0	54.5	-	85.3
PF1	Photo-Fenton				UV-A	94.3
F2	Fenton	6.0	3.0	50.0	-	89.3
PF2	Photo-Fenton				UV-A	95.8
F3	Fenton	7.8	3.0	38.4	-	96.4
PF3	Photo-Fenton				UV-A	99.7
PF4A	Photo-Fenton	6.0	2.4	40.0	UV-A	97.3
PF4B					UV-B	91.3
PF4C					UV-C	93.3

Higher degradations were obtained with lower ratios  $[\text{H}_2\text{O}_2]_0/[\text{Fe}^{2+}]_0$ . Indeed, scavenging of HO $^{\cdot}$  radicals occur with high concentrations of H $_2$ O $_2$ <sup>4,9-11</sup>. It is also possible to note that UV-A lights gave better results than the other lamps, but more experiments are necessary for elucidating the behavior of all irradiated compounds<sup>4</sup>.

Degradation was always lower for Fenton experiments compared to photo-Fenton. Anyway, X increased always fast whenever an experiment was launched. As seen in Fig. 1, up to half of phenol could be destroyed during the first 2 minutes in some cases. The rate of degradation diminished from this instant on but remained elevated, such that photo-Fenton and optimum Fenton experiments (F3) exceeded 70% or even 80% degradation within 5 minutes. In order to evaluate the extent of mineralization, it would have been insightful to measure the total organic carbon contents of the treated samples and to compare them to those of the untreated samples. However, these analyses were not carried out in this study.

## CONCLUSIONS

The effectiveness of Fenton and photo-Fenton AOPs for degrading phenol above 90 % and even close to 100 % in aqueous solutions of concentration 20 ppm is verified. Ultraviolet-A light is able to enhance degradation, but nonirradiated Fenton treatments with a ratio of initial molar concentrations of 38.4 yield equivalent degradations. Unless extremely high degradations are necessary, either treatment may be selected; in such cases, economic analyses should help decide which process is preferable. This study is a bedrock for exploring the application of the techniques to challenging phenol-containing wastewaters as is the case in niche Peruvian industries. Such studies are in course.

**Figure 1.** Evolution of the average phenol degradation as the reaction time increases.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank INNÓVATE PERÚ for funding this work (contract 375-PNICP-PIAP-2014) and O. D. Matallana, M. E. Quintana Cáceda and O. K. Terreros Delgadillo for their support.

## REFERENCES

1. Bruce RM, Santodonato J, Neal MW, Summary Review of the Health Effects Associated With Phenol. *Toxicol Ind Health*. 1987; 3: 535-568.
2. MINAM. Modifican los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua y establecen disposiciones complementarias para su aplicación. [Internet]. Decreto Supremo 015-2015-MINAM, Peru, 2015. [accesado 12 set 2017]. Disponible en: <http://www.ana.gob.pe/sites/default/files/normatividad/files/ds-ndeg-015-2015-minam.pdf>
3. Rappoport Z. *The Chemistry of Phenols*. Chichester, UK: Wiley; 2003.
4. Pignatello J, Oliveros E, MacKay A. Advanced Oxidation Processes for Organic Contaminant Destruction Based on the Fenton Reaction and Related Chemistry. *Crit Rev Environ Sci Technol*. 2006; 36(1): 1-86.
5. Nogueira KRB, Nascimento CAO, Guardani R, Texeira ACSC. Feasibility Study of a Solar Reactor for Phenol Treatment by the Photo-Fenton process in Aqueous Solution. *Chem Eng Technol*. 2012; 35(12): 2125-2132.
6. Salas G, Ale N. Tratamiento de las aguas residuales de una refinería de petróleo por oxidación avanzada (AOX), usando el reactivo de Fenton (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup>). *Rev Per Quím Ing Quím*. 2008; 11(2): 12-18.
7. Tinoco OR, Medina AM, Zapata H. Tratamiento de efluentes textiles con luz ultravioleta solar. *Rev Fac Ing Ind*. 2011; 14(2): 9-15.
8. Neyens E, Baeyens J. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. *J Hazard Mater*. 2003 Mar 17; 98(1-3): 33-50.
9. Babuponnusami A, Muthukumar K. A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewater treatment. *J Environ Chem Eng*. 2014; 2(1): 557-572.
10. Pérez M, Torrades F, García-Hortal JA, Domènech X, Peral J. Removal of organic contaminants in paper pulp treatment effluents under Fenton and photo-Fenton conditions. *Appl Catal B-Environ*. 2002; 36(1): 63-74.
11. Pouran SR, Abdul Aziz AR, Daud WMAW. Review on the main advances in photo-Fenton oxidation system for recalcitrant wastewaters. *J Ind Eng Chem*. 2015; 21: 53-69.
12. Yavuz Y, Savas Koparal A, Bakur Ögütveren Ü. Phenol Removal through Chemical Oxidation using Fenton Reagent. *Chem Eng Technol*. 2007; 30(5): 583-586.
13. Kavitha V, Palanivelu K. The role of ferrous ion in Fenton and photo-Fenton processes for the degradation of phenol. *Chemosphere*. 2004; 55(9):1235-1243.
14. Will IBS, Moraes JEF, Teixeira ACSC, Nascimento CAO. Photo-Fenton degradation of wastewater containing organic compounds in solar reactors. *Sep Purif Technol*. 2004; 34(1-3): 51-57.
15. Emerson E, Kelly K. The condensation of aminoantipyrene. VI. A study of the effect of excess base on the reaction of amino-antipyrene with phenolic compounds in the presence of oxidizing agents. *J Org Chem*. 1948; 13(4): 532-534.

## ESTUDIO QUÍMICO DE LAS HOJAS DE *Datura candida* (PERS.) SAFF

Billy Cabanillas Amado<sup>a</sup>, Víctor Reyna Pinedo<sup>a\*</sup> y Virginia Torpoco Carmen<sup>a</sup>

### RESUMEN

De las hojas de *Datura candida* (Pers.) Saff, colectadas en Huancabamba (Piura), se aislaron escopolamina (**1**) y norescopolamina (**2**) como los principales alcaloides, los cuales fueron identificados mediante el análisis de sus espectros de masas y de RMN. Adicionalmente, se realizó el análisis cualitativo de los metabolitos secundarios y la cuantificación de alcaloides presentes en las hojas<sup>1</sup>.

**Palabras clave:** *Datura candida*, alcaloides tropanicos, escopolamina, norescopolamina.

## CHEMICAL STUDY OF THE LEAVES OF *Datura candida* (PERS.) SAFF

### ABSTRACT

From of leaves of *Datura candida* (Pers.) Saff collected in Huancabamba (Piura) were isolated scopolamine (**1**) and norscopolamine (**2**) as principal alkaloids. The structures were determinate by analysis of the MS and NMR data. Furthermore, the qualitative analysis and quantitative determination of alkaloids were performed.

**Key words:** *Datura candida*, tropane alkaloids, scopolamine, norscopolamine.

### INTRODUCCIÓN

El género *Datura*, perteneciente a la familia *Solanaceae*, incluye cerca de nueve especies principalmente distribuidas en América central y del sur<sup>2</sup>. Estas especies son consideradas una rica fuente de alcaloides tropanicos de interés medicinal, siendo los principales la escopolamina y la hiosciamina, los cuales son utilizados como agentes anticolinergicos que actúan sobre el sistema nervioso parasimpático<sup>3</sup>. No obstante que se ha conseguido la síntesis total de estos alcaloides, hasta la fecha la escopolamina y varios alcaloides tropanicos son producidos principalmente en plantas con ayuda de la ingeniería genética<sup>3,4</sup>.

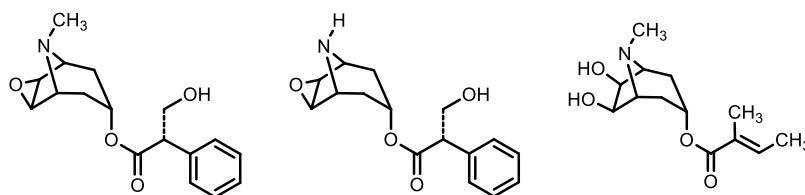
---

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210, Lima 25, Perú.  
vrey26@yahoo.es

Las especies del género *Datura* son utilizadas tradicionalmente como plantas ornamentales y también son empleadas en la medicina tradicional. *Datura candida* (o *Brugmansia candida*) es una planta utilizada tradicionalmente para tratar traumatismos, dolores reumáticos, diarreas o úlceras<sup>5,6</sup>.

En la bibliografía se reportan estudios realizados a ejemplares de *Datura candida* cultivados en Australia e Inglaterra que difieren en la composición de alcaloides<sup>7-9</sup>. En todos los casos se reporta a la escopolamina (1) como el alcaloide principal (figura 1).

A continuación, se describe el estudio cualitativo, cuantitativo y el aislamiento e identificación de los dos principales alcaloides presentes en las hojas de *D. candida*.



**Figura 1.** Estructuras de la escopolamina (1), norescopolamina (2) y meteloidina (3).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Materiales y equipos

El contenido total de alcaloides se determinó con un potenciómetro Mach EC20. Los espectros de masas fueron registrados en un espectrómetro Waters-Micromass. Las cromatografías en columna se realizaron sobre óxido de aluminio Merck 90 de grados de actividad II-III y silica gel SDS 60A (35-70  $\mu\text{m}$ ). Para las cromatografías en capa fina se utilizaron placas de silica Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, 0,2 mm (Riedel de Haën), mientras que para las cromatografías en capa preparativa se emplearon placas de silica F<sub>254</sub>, 2mm (Merck). Se utilizó el reactivo de Dragendorff modificado por Munier<sup>10</sup> como revelador. El espectro de masas se registró en un espectrómetro de masas Waters – Micromass Tipo ESI – TOF, modo de ionización ESI / Alta Resolución (Laboratorio de Espectrometría del ICSN-CNRS); los espectros de <sup>1</sup>H-RMN, <sup>13</sup>C-RMN, <sup>1</sup>H – <sup>1</sup>H COSY, <sup>1</sup>H – <sup>13</sup>C HMQC y <sup>1</sup>H – <sup>13</sup>C HMBC en un equipo RMN Bruker AC-300 (300 MHz) en el Institute de Chimie des Substances Naturelles (ICSN-CNRS), de Gif-Sur-Yvette, Francia.

### Material vegetal

Las hojas de *D. candida* se colectaron en la provincia de Huancabamba, departamento de Piura, en julio de 2001 y fueron identificadas por la Blga. Joaquina Albán Castillo (UNMSM). Los catálogos de los especímenes fueron depositados en el Museo de Historia Natural de la Universidad Mayor de San Marcos.

Las hojas se secaron en estufa a 40 °C, durante cinco días. La muestra seca se pulverizó a grano fino en un molino doméstico.

### **Análisis cualitativo**

El análisis cualitativo (marcha fitoquímica) se realizó por triplicado según el método descrito por Rondina & Coussio<sup>11</sup>.

### **Análisis cuantitativo de alcaloides**

El contenido total de alcaloides en las hojas de *D. candida* se determinó mediante el método de titulación potenciométrica propuesto por Hoet & Ríos<sup>12</sup>.

### **Aislamiento de alcaloides**

Las hojas de *D. candida* secas y pulverizadas (150 g) se desengrasaron con n-hexano (300 mL x 3) mediante agitación continua. El solvente se eliminó mediante filtración y la muestra vegetal se secó a temperatura ambiente. El sólido resultante se maceró en MeOH (300 mL x 3) durante 24 h, luego se filtró y el solvente se eliminó a presión reducida, obteniéndose un extracto sólido de color verde oscuro (12,6 g). El extracto se disolvió en 20 mL de CHCl<sub>3</sub> y se extrajo con HCl 1N (100 mL x 3). Las soluciones ácidas obtenidas se juntaron y se alcalinizaron con NH<sub>3</sub> 15N (110 mL) hasta alcanzar un pH 11, y luego se extrajeron con CHCl<sub>3</sub> (100 mL x 3) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL x 2). Ambos extractos orgánicos fueron combinados y el solvente fue evaporado obteniéndose el extracto bruto de alcaloides (EBA) bajo la forma de una resina de color marrón (153 mg). Este mismo procedimiento de extracción fue repetido obteniéndose cuatro fracciones adicionales (119, 135, 1964 y 827 mg, respectivamente). Del cuarto extracto se tomaron 1560 mg que fueron fraccionados mediante cromatografía en columna sobre óxido de aluminio utilizando una mezcla CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH de polaridad creciente según el método descrito por Griffin<sup>7</sup>, obteniéndose en total siete fracciones (A<sub>1-7</sub>). Sin embargo, la mayor parte del extracto se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> sin mayor separación, obteniéndose 1190 mg en la fracción A<sub>1</sub>. Debido a ello, se decidió realizar una segunda cromatografía en columna utilizando sílica gel como absorbente. Para ello, se tomó una parte de esta fracción A<sub>1</sub> (482 mg) y la columna se eluyó con una mezcla de polaridad creciente de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH, obteniéndose en total cuatro fracciones (A<sub>1</sub>B<sub>1-4</sub>). Las dos fracciones con mayor masa, A<sub>1</sub>B<sub>2</sub> (195 mg) y A<sub>1</sub>B<sub>3</sub> (83 mg), mostraron una composición similar según sus espectros <sup>1</sup>H-RMN. Por ello, toda la fracción A<sub>1</sub>B<sub>3</sub> (83 mg) y un aparte de la fracción A<sub>1</sub>B<sub>2</sub> (70 mg) fueron purificadas, por separado, mediante cromatografía en capa fina preparativa utilizando CHCl<sub>3</sub>-EtOH-NH<sub>3</sub> (100:10:1) como eluente, consiguiéndose aislar dos compuestos, escopolamina **1** (65 mg) y norescopolamina **2** (18 mg), como resinas de color pardo.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Análisis cualitativo**

El análisis cualitativo mostró que las hojas de *D. candida* contienen los siguientes grupos de compuestos: aminogrupos primarios y/o secundarios, grupos fenólicos libres, triterpenos y esteroides, alcaloides, catequinas, taninos y saponinas.

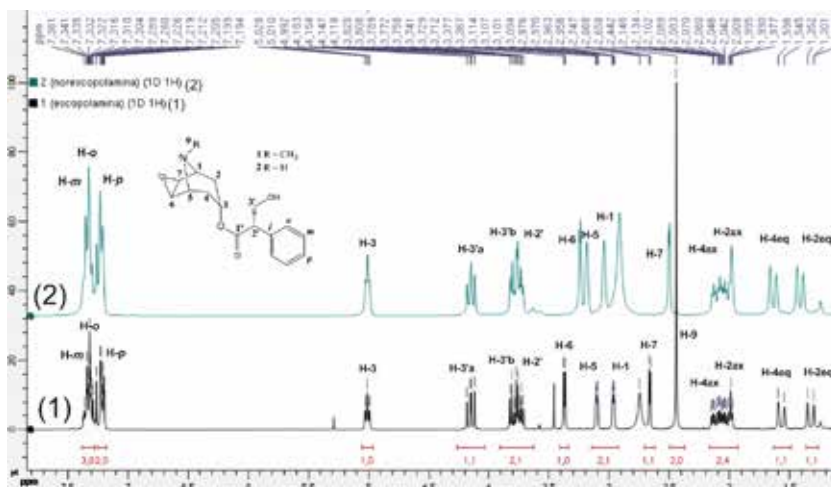


### Análisis cuantitativo de alcaloides

La determinación del contenido del total de alcaloides arrojó un valor de 0,45 % en base a muestra seca. En la literatura se reportan contenidos de alcaloides muy variables. En 1966, Griffin<sup>7</sup> reporta un contenido total de alcaloides de 0,62 % en las hojas de *D. candida* cultivada en Brisbane (Australia). Posteriormente, Bristol *et al.*<sup>8</sup> encontraron que las partes aéreas de muestras de *D. candida* (Pers.) Saff., cultivadas en Nottingham (Inglaterra) y en Hawaii (EE. UU), contienen cantidades de alcaloides que varían entre 0,30 – 0,43 %.

### Identificación estructural de los principales alcaloides

El compuesto **1**, mostró en su espectro de masas ESI-MS un pico de ion molecular a  $m/z$  304  $[M+H]^+$  correspondiente con la fórmula  $C_{17}H_{22}NO_4$ . El espectro de  $^1H$ -RMN en  $CDCl_3$  (figura 2) exhibe en el rango  $\delta_H$  0 - 5 ppm la presencia de un grupo metilo, tres metilenos y seis metinos, y en el rango a  $\delta_H$  7,19 – 7,37 ppm muestra los cinco protones aromáticos del anillo bencénico monosustituido. Los valores exactos de  $\delta_H$  de cada uno de estos protones están indicados en la tabla 1.



**Figura 2.** Espectros de  $^1H$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ ) de la escopolamina (**1**) y la norescopolamina (**2**) aislados de las hojas de *D. candida*.

El espectro de  $^{13}C$ -RMN muestra una señal que indica la presencia de un carbonilo de una función éster a  $\delta_C$  171,9 ppm. Asimismo, la presencia de solo cuatro señales a  $\delta_C$  135,6, 128,1, 129,0 y 128,0 ppm afianza la hipótesis de la presencia del anillo aromático. Esta suposición sería luego confirmada por el análisis de los espectros COSY, HMBC y HSQC. Las correlaciones observadas en estos espectros permitieron también determinar la existencia de un anillo de tropano como parte de la molécula. De esta manera se logró determinar que la estructura del compuesto **1** corresponde a la escopolamina. De igual manera, se verificó que los desplazamientos químicos observados en los espectros de  $^1H$ -RMN y  $^{13}C$ -RMN están en concordancia con aquellas correspondientes a la escopolamina publicadas por Sarazin *et al.*<sup>13</sup>.

**Tabla 1.** Datos  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz) y  $^{13}\text{C}$ -RMN (75 MHz) en  $\text{CDCl}_3$  para la escopolamina (**1**) y norescopolamina (**2**).

Numeración del H	<b>1</b>		<b>2</b>	
	$\delta_{\text{H}}$ , mult., (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , mult., (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	2,98, 1H, dd (4,0, 2,0) 1,34, 1H, d (15,3) eq	57,7	2,98, 1H, dd (4,0, 3,5) 1,35, 1H, d (15,5) eq	53,9
2	2,03, 1H, ddd, (15,3, 5,4, 4,0) ax	30,7	1,95, 1H, ddd, (15,5, 5,1, 4,0) ax	31,0
3	5,02, 1H, t (5,4) 1,58, 1H, d (15,0) eq	66,9	4,95, 1H, t (5,1) 1,58, 1H, d (15,1) eq	66,9
4	2,12, 1H, ddd, (15,0, 5,4, 4,0) ax	30,9	2,05, 1H, ddd, (15,1, 5,1, 4,0) ax	31,2
5	3,12, 1H, dd, (4,0, 2,0)	57,8	3,13, 1H, dd (4,0, 3,5)	54,3
6	3,38, 1H, d (3,0)	56,4	3,19, 1H, d (2,9)	53,4
7	2,67, 1H, d (3,0)	55,9	2,90, 1H, d (2,9)	51,8
9	2,45, 3H, s	42,1	-	-
1'	-	171,9	-	171,8
2'	3,75, 1H, dd (8,6, 5,3)	54,3	3,68, 1H, dd (8,5, 5,1)	51,7
3'b	3,81, 1H, dd, (10,6, 5,3)	64,0	3,74, 1H, dd (10,7, 5,1)	63,9
3'a	4,16, 1H, dd, (10,6, 8,6)		4,09, 1H, dd (10,7, 8,5)	
4'	2,76, 1H, s	-	2,92, 1H, s	-
<i>i</i>	-	135,6	-	135,7
<i>o</i>	7,31, 2H, d (1,8)	128,1	7,31, 2H, d (1,8)	128,1
<i>m</i>	7,34, 2H, dd (7,3, 1,8)	129,0	7,34, 2H, dd (7,3, 1,8)	129,0
<i>p</i>	7,22, 1H, dd (7,8, 1,8)	128,0	7,22, 1H, dd (7,8, 1,8)	128,0

El compuesto **2** exhibió en su espectro de masa ESI-MS un pico de ion molecular a  $m/z$  290  $[\text{M}+\text{H}]^+$  concordante con la fórmula  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NO}_4$ . Sus espectros de  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN mostraron similitud con aquellos para la escopolamina, excepto por las señales a  $\delta_{\text{H}}$  2.45 ppm y  $\delta_{\text{C}}$  42.1 ppm. El análisis de las correlaciones mostradas sobre los espectros COSY, HMBC y HSQC permitió determinar que el compuesto **2** es la norescopolamina.

Los alcaloides aislados en las diferentes muestras de *D. candida* reportados en la literatura, también presentan variación. La muestra estudiada por Griffin<sup>7</sup> contiene como alcaloides principales escopolamina y meteloidina, junto con pequeñas cantidades de norescopolamina y norhiosciamina. Bristol *et al.*<sup>8</sup> encontraron que las partes aéreas de *D. candida* (Pers.) Saff., contienen principalmente escopolamina, además de pequeñas cantidades de norescopolamina, meteloidina, atropina, oscina y noratropina. Estos resultados indican que existe poca diferencia cualitativa entre los alcaloides de esta planta y de la especie estrechamente relacionada de *D. candida* sens. lat. publicada por Griffin. Por otro lado, Evans & El Imann<sup>9</sup> estudiaron las partes aéreas de una muestra *D. candida*, denominada “Flinthan Hall” y aislaron escopolamina como el alcaloide principal junto con otros alcaloides, pero no menciona la presencia de

noescopolamina ni meteloidina como en los casos anteriores. Estos resultados tan diferentes se explican si se tiene en cuenta que la especie *D. candida* es una planta que en el proceso de su cultivo puede ser modificada taxonómicamente, alterando la forma de sus hojas, flores y frutos, cambios que se dan también a nivel citológico y en su composición química, por lo que estos diferentes “cultivares” resultan tan diferenciados en su composición química.

La identificación de escopolamina y noescopolamina como los principales alcaloides en la muestra de *D. candida* sugiere cierta similitud en cuanto a la composición de las muestras de Griffin y Bristol. El buen contenido de alcaloides (0,45 %) y la identificación de la escopolamina como el principal alcaloide en nuestra muestra de *D. candida*, sustenta el uso de esta planta como una potencial fuente natural de este alcaloide para su explotación comercial de manera similar como sucede en otros países<sup>4</sup>. Además, la identificación de la noescopolamina como el segundo alcaloide mayoritario resulta importante, dado que la escopolamina puede sintetizarse a partir de este en una sola etapa<sup>14</sup>.

## CONCLUSIONES

A partir de las hojas de *D. candida*, colectada en Perú, se aislaron escopolamina y noescopolamina como los alcaloides principales, los cuales fueron identificados mediante sus espectros de masas y de resonancia magnética nuclear. En el análisis cualitativo de las hojas se verificó la presencia de: aminogrupos primarios y/o secundarios, grupos fenólicos libres, triterpenos y esteroides, alcaloides, catequinas, taninos y saponinas. Asimismo, se determinó que las hojas contienen un porcentaje de alcaloides totales de 0,45 %.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al señor Francisco Guerrero P., herbolario residente en la ciudad de Huancabamba (Piura, Perú) por el apoyo en la colecta del material vegetal; a la Dra. Biol. Joaquina Albán C. (Museo de Historia Natural, Universidad Nacional Mayor de San Marcos) por la determinación botánica del material vegetal; al Dr. Christian Marazano, Director de Investigación, y al Dr. Bernard Delpech, investigador, por el apoyo y facilidades brindadas al Bach. Billy Cabanillas A., en el Institute de Chimie des Substances Naturelles (ICSN-CNRS), de Gif-Sur-Yvette, Francia, para la purificación cromatográfica de los extractos de alcaloides, así como para la obtención de los espectros de masas y de resonancia magnética nuclear <sup>1</sup>H-RMN, <sup>13</sup>C-RMN, <sup>1</sup>H – <sup>1</sup>H COSY, <sup>1</sup>H – <sup>13</sup>C HMQC y <sup>1</sup>H – <sup>13</sup>C HMBC; al Instituto General de Investigación de la UNI y al Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias – UNI, por el apoyo económico que nos brindaron para la realización de este trabajo de investigación, desde la colecta del material vegetal hasta la obtención de los extractos de alcaloides.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Cabanillas B. Estudio químico de las hojas de la misha rastrera (*Datura candida*), [Tesis de Licenciatura] Lima, Perú: Universidad Nacional de Ingeniería; 2008.
2. Albretch K. Tropical Flowering Plants: a guide to identification and cultivation. Portland, OR: Timber Press. Inc.; 2003.
3. Hashimoto T, Yun J-D, Yamada Y. Production of tropane alkaloids in genetically engineered root cultures. *Phytochemistry*. 1993; 32 (3): 713-718.
4. Palazón J, Navarro-Ocaña A, Hernandez-Vazquez L, Hossein M. Application of metabolic engineering to the Production of scopolamine. *Molecules*. 2008; 13(8): 1722-1742.
5. Bussmann RW, Sharon D. Traditional medicinal plant use in Northern Peru: tracking two thousand years of healing culture. *J Ethnobot Ethnomed*. 2006; 2: 47-54.
6. De Feo V. Ethnomedical field study in northern peruvian andes with particular reference to divination practices. *J Ethnopharmacol*. 2003; 85(2-3): 243-256.
7. Griffin WJ. Alkaloids in *Datura*, Section *Brugmansia*. The peach flowered form of *Datura candida* sens. lat. *Planta Med*. 1966; 14: 468-474.
8. Bristol M, Evans W, Lampard J. The alkaloids of the genus *Datura*, Section *Brugmansia*. Part VI. Tree *Datura* drugs (*Datura Candida* cvs.) of the Colombian Sibundoy. *Lloydia*. 1969; 32: 123-130.
9. El Imam YMA, Evans WC. Alkaloids of a *Datura candida* cultivar, *D. aurea* and various hybrids. *Fitoterapia*. 1990; 16(2): 148-152.
10. Randerath, K. *Cromatographie sur couches minces*. Paris: Gauthier – Villars; 1971.
11. Rondina R, Coussio J. Estudio fitoquímico de plantas medicinales argentinas. *Revista de Investigación Agropecuaria-INTA*. 1969; 5(22): 351-366.
12. Hoet P, Ríos M. Estudio cuantitativo de los alcaloides totales en *Datura stramonium* del Perú. *Metodología. Bol Soc Quím Perú*. 1980; 46: 113-121.
13. Sarazin C, Goethals G, Séquin J, Barbotin, J-N. Spectral reassignment and structure elucidation of scopolamine free base through two-dimensional NMR techniques. *Magn Reson Chem*. 1991; 29(4) : 291-300.
14. Mulholland GK, Jewett DM, Tooringian SA. Routine synthesis of N-[11C-methyl] scopolamine by phosphite mediated reductive methylation with [11C] formaldehyde. *Appt Radiat Isot*. 1988; 39(5):373-379.