

Artículo Original

CUANTIFICACIÓN DE ALCALOIDES DE *Ladenbergia oblongifolia* (HUMB. EX MUTIS) L. ANDERSSON “ÁRBOL DE LA QUINA”

QUANTIFICATION OF ALKALOIDS OF *Ladenbergia oblongifolia* (HUMB. EX MUTIS) L. ANDERSSON “QUINA TREE”

Segundo E. López-Medina^{1*}, José Mostacero-León¹, Noe Ildefonso Costilla-Sánchez²; Armando E. Gil-Rivero¹; Anthony J. De La Cruz-Castillo¹; Luigi Villena-Zapata³

¹ Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II S/N; Ciudad Universitaria, Trujillo - Perú.

² Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n. Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú

³ Facultad de Ciencias Naturales y Aplicadas. Universidad Nacional Intercultural Fabiola Salazar Leguía de Bagua

Autor para correspondencia: slopezm@unitru.edu.pe

Segundo E. López-Medina:  <https://orcid.org/0000-0001-7719-8607>

José Mostacero-León:  <https://orcid.org/0000-0003-2556-3013>

Noe Ildefonso Costilla-Sánchez:  <https://orcid.org/0000-0002-0762-6271>

Armando E. Gil-Rivero:  <https://orcid.org/0000-0002-4521-5588>

Anthony J. De La Cruz-Castillo:  <https://orcid.org/0000-0002-5409-6146>

Luigi Villena-Zapata:  <https://orcid.org/0000-0001-9430-0028>

Recibido: 22 de octubre 2020 / Aceptado: 17 de diciembre 2020

RESUMEN

Dentro de la megafitodiversidad del Perú, se enmarcan muchas especies de los géneros *Cinchona*, *Ladenbergia* y *Remijia*; conocidas indistintamente por los pobladores de las Comunidades andino-amazónicas como “árboles de la quina”, “quina” o “cascañillas” y a las que le atribuyen propiedades medicinales frente a la malaria, enfermedades bronco-respiratorias y especialmente el Covid-19. Sin embargo, la explotación indiscriminada y el poco interés de la investigación ha contribuido a la extinción y confusión en la identificación de las especies en géneros diferentes; ante ello se propuso como objetivo investigación cuantificar los alcaloides de *Ladenbergia oblongifolia* “árbol de la quina”; a fin de fomentar la revalorización de esta especie como recurso etnobotánico promisorio que busque correlacionar sus principios activos o metabolitos secundarios con las consiguientes acciones farmacológicas que le atribuyen. Para ello se empleó corteza y hojas de *L. oblongifolia*, procedentes de Chiclín, Chicama, Ascope, La Libertad, Perú; la determinación taxonómica se realizó en el *Herbarium Truxillense* (HUT); mientras que la extracción y cuantificación de alcaloides en el Laboratorio de Métodos Instrumentales, Departamento de Química, Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Trujillo. Se concluye que las hojas de *L. oblongifolia* contienen 0,1039 mmol alcaloides/g materia seca, pudiendo extraerse estos metabolitos directamente de las hojas, sin necesidad de cortar o destruir los árboles, por lo que urge implementar mecanismos de uso de las hojas en lugar de la corteza, evitando así su extinción.

Palabras claves: Metabolito secundario, alcaloides hojas, árbol nacional, flora, Perú.

ABSTRACT

The megadiversity of Peru, has many species framed in the genus *Cinchona*, *Ladenbergia* and *Remijia*, and that the inhabitants of the Andean-Amazonian Communities know them indistinctly as "quina trees", "quina" or "cascañillas" and which they attribute medicinal properties to them against malaria, broncho-respiratory diseases and especially Covid-19. However, the indiscriminate exploitation and the little interest of the investigation has contributed to the extinction and confusion in the identification of the species in different genera; In view of this, the research objective was to quantify the alkaloids of *Ladenbergia oblongifolia* "quina tree"; in order to promote the revaluation of this species as a promising ethnobotanical resource that seeks to correlate its active principles or secondary metabolites with the consequent pharmacological actions attributed to it. For this, bark and leaves of *L. oblongifolia* were used, from Chiclín, Chicama, Ascope, La Libertad, Peru; the taxonomic determination was carried out in the *Herbarium Truxillense* (HUT); while the extraction and quantification of alkaloids in the Laboratory of Instrumental Methods, Department of Chemistry, Faculty of Chemical Engineering of the National University of Trujillo. It is concluded that the leaves of *L. oblongifolia* contain 0.1039 mmol alkaloids / g dry matter, and these metabolites can be extracted directly from the leaves, without the need to cut or destroy the trees, so it is urgent to implement mechanisms of use of the leaves instead of the bark, thus avoiding their extinction.

Keywords: Secondary metabolite, alkaloids, national tree, flora, Peru.

DOI: <http://dx.doi.org/10.17268/rebiol.2020.40.02.05>

1. INTRODUCCIÓN

Se conoce que a diferentes especies de los géneros *Cinchona*, *Ladenbergia* y *Remijia*, pertenecientes a las Rubiaceae se les llama comúnmente “árboles de la quina”, “quina” o “cascarilla”. *Cinchona* cuenta con 25 especies; de las cuales 4 son endémicas para el Perú. *Ladenbergia* tiene 35 especies, de las cuales 7 son endémicas; mientras que *Remijia* cuenta con 45 especies, 1 endémica para el Perú; todas ampliamente distribuidas desde Costa Rica hasta Bolivia (Brako y Zarucchi, 1993; Mostacero et al., 2009; APG-IV, 2016; Cuví, 2018).

Ladenbergia oblongifolia, es un árbol de 16 a 20 metros de altura; con hojas oblongo-lanceoladas u oblongo-ovadas; inflorescencia en panículas pedunculadas de flores blancas, confundiendo fácilmente con especies del género *Cinchona* (Gallego y Diaz, 2008). Esta especie es de notable importancia maderera y medicinal, lo que ha generado su explotación indiscriminada de las especies de los géneros *Cinchona*, *Ladenbergia* y *Remijia*. Sin embargo, todavía es posible encontrar relictos en los bosques de neblina del país, como los de Upaypíteq, Palpíteq, Hualte, Tute, Huacapampa y Pandachi, localizados en el distrito de Kañaris, provincia de Ferreñafe, donde albergan una enorme biodiversidad que debe ser preservada (Gómez et al., 2016; Huamán et al., 2019; Lucero, 2019).

Como parte de la medicina tradicional los pobladores maceran e ingieren la corteza de estos árboles para contrarrestar el paludismo, enfermedades respiratorias, la neumonía y recientemente a la letal pandemia Covid-19. Igualmente es empleada para combatir catarros crónicos, dolores estomacales y prevenir la caída del cabello; para disminuir las autoinflamaciones y mejorar la autoinmunidad persistente (Alfaro y Paz, 2020; Eras et al., 2019; Gómez et al., 2016; Mostacero et al., 2009; Maldonado et al., 2020; Ruiz, 2020). Cabe resaltar que las especies del género *Cinchona* son muy conocidas por su contenido en alcaloides del tipo: quinina, quinidina, cinconina y cinconidina, que tienen efectos, ampliamente empleados para el tratamiento de enfermedades inmunológicas y virales como el virus SARS-CoV-2; cuya concentración de alcaloides puede variar, incluso dentro de la misma especie debido a la localidad, altitud, tipo de suelo, estado fenológico y época de cosecha (Maldonado et al., 2017; Cuví, 2018; Alfaro y Paz, 2020; Liu et al., 2020; Yao et al., 2020).

Para especies del género *Ladenbergia*, se ha identificado la presencia de glucósidos triterpenoides, procedentes de la corteza de *L. hexandra* (Furukawa et al., 2017). En cambio, en *L. oblongifolia* se desconoce la presencia de metabolitos secundarios, por ello se hace imprescindible su cuantificación y posterior determinación. Ante ello se propuso como objetivo de investigación cuantificar la presencia de alcaloides en corteza y hojas de *L. oblongifolia* “árbol de la quina”.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de material biológico

El material biológico procedió de Chiclín, Chicama, Ascope, La Libertad, Perú; ubicado entre -7,837771, -79,161478. Este material constó de hojas y tallos (corteza), además de ramas floríferas para su registro en el Herbarium Truxillense (HUT); registro que permitió extender la certificación y Código: 60465 y 60466 correspondiente para *Ladenbergia oblongifolia* (Humb. ex Mutis) L. Andersson “árbol de la quina”.



Figura 1. Ejemplar de *Ladenbergia oblongifolia* “árbol de la quina”, junto al rector de la Universidad Nacional de Trujillo: Dr. Carlos Vásquez Boyer.

Preparación de la muestra

Parte del material colectado fué transportado al Laboratorio de Métodos Instrumentales, Departamento de Química, Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Trujillo, donde se realizó la extracción y cuantificación de alcaloides según la metodología descrita por (Sharapin et al., 2000). Tanto hojas como tallos fueron secados en estufa a 45°C por siete días; para luego ser triturados en un molino de granos de la marca IKA, hasta alcanzar tamaños de partícula que van entre 0,1 y 0,2 mm de diámetro. Para la maceración del molido se pesaron 5 g, los que previamente humedecidos con carbonato de sodio al 5% (p/p), se dejaron reposar por 30 minutos, para luego secarlos en estufa por dos horas a 50 °C. A continuación, este contenido se mezcló con 50 mL de diclorometano por un periodo de 72 horas para su extracción. Luego las disoluciones fueron “sonicadas” dos veces por 15 minutos, dejando un espacio de reposo de 10 minutos para completar la extracción; en un equipo sonicador de la marca J. P. Selecta S. A.

Para el secado se evaporó el diclorometano en una campana extractora a la temperatura de 60° C hasta $\frac{1}{4}$ de su volumen original; transfiriendo este contenido a un embudo de decantación junto con 15 mL de HCl al 5%(p/v) y agitándolo lentamente por 5 minutos. Luego se mantuvo en reposo durante 15 minutos, para que se separe la fase ácida en un vaso de precipitación de 100 mL, para finalmente adicionarle hidróxido de amonio hasta conseguir un pH de 9,5.

Para la extracción del contenido final se adicionó 30 mL de cloroformo. Se agitó suavemente durante 5 minutos y se mantuvo en reposo por 15 minutos. La fase orgánica se depositó en un vaso de precipitación de 100 mL, dejándose evaporar completamente el cloroformo a 60°C. Por último, el contenido final fue disuelto con 30.0 mL de ácido sulfúrico estándar, quedando listo para su valoración.

Cálculo de alcaloides totales

Para la valoración de la muestra, se agregó en una bureta una disolución estándar de NaOH a la concentración de 0,1025 M; paralelamente se le añadió 3 gotas del indicador rojo de metilo al vaso que contenía alcaloides-ácido sulfúrico, luego se dio inicio a la valoración hasta que la coloración roja cambie a amarillo. Todo este procedimiento se repitió dos veces más, para luego hacer el cálculo de alcaloides totales aplicando la siguiente expresión de acuerdo a la valoración por retroceso:

$$\text{mmol Alcaloides totales} = \text{mmol de H}_2\text{SO}_4 - \text{mmol NaOH}$$

$$\text{mmol Alcaloides totales/g de muestra seca} = \text{mmol Alcaloides}/5.0 \text{ g}$$

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente con el software R. Se estimó la desviación estándar, análisis de varianza y la prueba de rangos múltiples de Duncan.

3. RESULTADOS

Los resultados estadísticos de la cuantificación de alcaloides en muestras de *L. oblongifolia* “árbol de la quina”, indican la presencia de $0,0997 \pm 0,0026$ mmol alcaloides/g materia seca en la corteza fresca, $0,1111 \pm 0,0024$ mmol alcaloides/g materia seca en la corteza seca y $0,1039 \pm 0,0064$ mmol alcaloides/g materia seca en las hojas. Predominando una mayor concentración de alcaloides en la corteza seca y en las hojas de *L. oblongifolia* “árbol de la quina”. La tabla 1 resume el análisis de varianza, demostrándose la existencia de diferencias estadísticamente significativa en el contenido de mmoles de alcaloides totales/g, debido a que el valor p-de significancia es menor que 0,05 ($p=0,0004989 < 0,05$). De la misma manera la tabla 2, corrobora la existencia de diferencias estadísticamente significativa mediante la prueba de rangos de Duncan, demostrándose que el material biológico constituido por la corteza seca, fue la que presentó el mayor promedio, seguido por las hojas y finalmente la corteza fresca.

Tabla 1. Análisis de varianza del estudio cuantificación de alcaloides de *Ladenbergia oblongifolia* “árbol de la quina”

Análisis unidireccional de medias	
data: mmoles and Tipo	
F = 34,827, num df = 2, denom df = 6, p-value = 0,004989*	
Nota: *La prueba se realizó con 95,0% de confianza	

Tabla 2. Grupos homogéneos de la prueba de rangos múltiples de Duncan, del estudio de cuantificación de alcaloides de *Ladenbergia oblongifolia* “árbol de la quina”

Material Biológico	Promedio	Subconjunto *
Corteza seca	0,1111	a
Hojas	0,1039	b
Corteza fresca	0,0997	c

Nota: Las medias con letras diferentes son significativamente diferentes.

4. DISCUSIÓN

La cuantificación de alcaloides en muestras de corteza fresca y seca y de hojas de *L. oblongifolia*, resalta la presencia de una alta concentración de alcaloides en las hojas de la especie en estudio. Investigaciones de Córdor et al. (2009), sostienen la presencia de quinina, quinidina, cinconidina y cinchonina en las cortezas de *Cinchona*. Mientras que para el género *Ladenbergia*, se ha

identificado la presencia de glucósidos triterpenoides, procedentes de la corteza de *L. hexandra* (Furukawa et al., 2017)

Si bien los resultados del análisis de varianza y de la prueba de Duncan corroboran la existencia de diferencias estadísticamente significativas (Tablas 1 y 2). El empleo de las hojas para fines medicinales contribuye en evitar cortar y destruir un árbol para hacer macerados, evitándose la tala indiscriminada de *L. oblongifolia*. Según lo reportado por Cuvi (2018), Aymard (2019) y Albán et al. (2020); los pobladores andino- amazónicos de diferentes localidades del Perú denominan a diferentes especies de plantas con el nombre común o vulgar de “quina”, “árbol de la quina” o “cascarilla”, que los taxónomos han ubicado indistintamente a través del tiempo en los géneros *Cinchona*, *Ladenbergia* y *Remijia*, todos pertenecientes a la familia de las Rubiaceae. Sin embargo, muchas personas no muy bien entendidas en el tema confunden fácilmente las especies de *Cinchona* con *Ladenbergia* o viceversa. Tal es el caso de *Ladenbergia oblongifolia*, que en un principio estuvo considerada como *Cascarilla caduciflora* o *Cascarilla magnifolia*, pero que posteriormente se sinonimizó a *Cinchona caduciflora*, la que luego pasó a ser *Cinchona grandiflora* y esta a su vez *Cinchona magnifolia* o *Cinchona rostrata* y en ese transcurrir de los estudios taxonómicos se sinonimizó con *Ladenbergia magnifolia*, la que actualmente está reconocida como *L. oblongifolia* (Brako y Zarucchi, 1993; Mostacero et al., 2009; APG-IV, 2016). De allí que Vargas (2002) refiere que las especies de género *Ladenbergia*, comparten hábitat con las especies del género *Cinchona* y son muy parecidas, sin embargo, la diferencia morfológica radica en la ausencia de pubescencia, tamaño de sus hojas, las que además son oscuras de forma redondeada; además de poseer diferente coloración y tamaño de las flores y tipo de dehiscencia de los frutos.

Por otro lado, el empleo de las especies pertenecientes a la familia Rubiaceae para combatir el paludismo, resfriados y/o reforzar el sistema inmunológico ha sido y siguen siendo utilizadas con muy buenos resultados. A pesar de ello, grande fue la sorpresa por parte de los pobladores que el árbol en referencia, no pertenece al género *Cinchona*, sino más bien al género *Ladenbergia* y específicamente a *L. oblongifolia*, demostrándose además que tanto hojas como corteza seca, contienen cantidades equivalentes de alcaloides. Cabe resaltar que investigaciones de Cuesta (2017), sostienen que *L. oblongifolia* por pertenecer a la misma familia de *C. officinalis* cuenta con propiedades medicinales semejantes para el tratamiento del paludismo y de resfriados, y de ser así porque no pensar que pueda combatir el COVID-19 (Maldonado et al., 2020), abriéndose la brecha de desarrollar numerosas investigaciones para la determinación de estos compuestos y su aplicación en la cura de este tipo de enfermedades.

5. CONCLUSION

Se cuantificaron los alcaloides de *Ladenbergia oblongifolia* “Árbol de la quina”, encontrando mayor cantidad en corteza seca seguida de hojas y corteza fresca, pudiéndose extraer estos metabolitos directamente de las hojas, sin necesidad de cortar o destruir los árboles, evitando así su extinción.

6. AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial al Laboratorio de Métodos Instrumentales, Departamento de Química, Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Trujillo, por brindarnos las facilidades para llevar a cabo esta investigación en su establecimiento. De la misma manera al *Herbarium Truxillense* (HUT) por la caracterización y registro botánico de la especie en estudio.

7. CONTRIBUCIÓN DE AUTORES

- Segundo E. López-Medina: Concepción de la idea, interpretación de datos y aprobación final de informe.
- José Mostacero-León: Concepción de la idea, interpretación de datos y aprobación final de informe.
- Noe Ildelfonso Costilla-Sánchez: Ejecución del trabajo de laboratorio.
- Armando E. Gil-Rivero: Redacción de informe.
- Anthony J. De La Cruz-Castillo: Recolección y procesamiento de datos.
- Luigi Villena-Zapata: Análisis y diseño estadístico.

8. CONFLICTO DE INTERESES

No existe conflicto de intereses entre los autores.

9. FINANCIAMIENTO

Autofinanciamiento

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albán, J., Chilquillo, E., Melchor, B., Arakaki, M., León, B., y Suni, M. (2020). *Cinchona* L. "Árbol de la Quina": repoblamiento y reforestación en el Perú. *Revista peruana de biología*, 27(3): 423 - 426.
- Alfaro, A., y Paz, M. (2020). Hidroxicloroquina: Del fármaco de herencia Inca. *Acta Médica Costarricense*, 62 (2): 57-64.
- Aymard, G. (2019). Breve reseña de los aspectos taxonómicos y nomenclaturales actuales del género *Cinchona* (Rubiaceae-Cinchoneae). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 43: 234-241.
- APG-IV. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Bot. J. Linn. Soc*, 181 (1): 1-20.
- Brako, L., y Zarucchi, J. (1993). Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Garden*, Vol 45.
- Cóndor, E., Oliveira, B., Loayza, K., Reyna, V. (2009). Estudio químico de los tallos de *Cinchona pubescens* Vahl. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 75 (1): 54-63.
- Cuesta, B. (2017). Estudio etnobotánico para plantas contra la malaria. Grado en Farmacia. Universidad de Complutense. Madrid, España. 21 pp. <https://eprints.ucm.es/55678/>
- Cuvi, N. (2018). "Tecnociencia y colonialismo en la historia de las *Cinchona*", *Asclepio*, 70 (1): 1-13.
- Eras, V., Moreno, J., Yaguana, M., Poma, R., y Paredes, D. (2019). Balance hormonal para la fase de brotación y enraizamiento *in vitro* de explantes de *Cinchona officinalis* L., provenientes de relictos boscosos de la provincia de Loja. *Bosques Latitud Cero*, 9(1):58 - 68.
- Furukawa, M., Kamo, S., Makino, M., Kurita., M., Tabata, K., Matsuzaki, K., Suzuki, T., y Uchiyama, T. (2017). Triterpenoid glycosides from *Ladenbergia hexandra* Klotzsch. *Phytochemistry* 136: 147-155.
- Gallego, M., y Diaz, Y. (2008). Propagación asexual de cascarillo (*Ladenbergia oblongifolia* Mutis) en condiciones de vivero en el municipio de Popayan en el departamento de Cauca. Tesis Ingeniero Forestal. Universidad de Cauca, Colombia.
- Gómez, A., Beraum, L., Gómez, O., y Llatas, E. (2016). Las quinas de los bosques de neblina del distrito de Kañaris- Lambayeque. Instituto Nacional de Innovación Agraria. Estación Experimental Agraria Vista Florida – Lambayeque. Ministerio de Agricultura y Riego.

- Huamán, L., Albán, J., y Chilquillo, E. (2019). Aspectos taxonómicos y avances en el conocimiento del estado actual del árbol de la quina (*Cinchona officinalis* L.) en el norte de Perú. *Ecología Aplicada* 18(2):145-153.
- Liu, J., Cao, R., Xu, M., Wang, X., Zhang, H., y Hu, H. (2020). Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection in vitro. *Cell Discov*, 6(1): 1-4.
- Lucero, C. (2019). Propuesta de creación del Área de Conservación Privada Bosques Montanos de Upaypitaq – Kañaris. Tesis Ingeniero Ambiental. Universidad de Lambayeque. Chiclayo, Perú.
- Maldonado, C., Barnes, C., Cornett, C., Holmfred, E., Hansen, S., Persson, C., Antonelli, A., y Ronsted, N. (2017). Phylogeny predicts the quantity of antimalarial alkaloids within the iconic yellow *Cinchona* Bark (Rubiaceae: *Cinchona calisaya*). *Frontiers in Plant Science* 8(391): 1-16.
- Maldonado, C., Paniagua, N., Bussmann, R., Zenteno, F., Fuentes, A. (2020). La importancia de las plantas medicinales, su taxonomía y la búsqueda de la cura a la enfermedad que causa el coronavirus (COVID-19). *Ecología en Bolivia* 55(1): 1-5.
- Mostacero, J., Mejía, F. y Gamarra, O. (2009). *Fanerógamas del Perú: taxonomía, utilidad y ecogeografía*. 1ra Edición. Ed. CONCYTEC. Trujillo, Perú. 1330 pp.
- Ruiz, P. (2020). El sulfato de quinina en 1828, por Rafael Hernández, de la Academia Médica de Barcelona. *GIMBERNAT*, 73: 71-86.
- Sharapin, N., Machado, L., Souza, E., Rocha, E., Valverde, E., Lopes, J. (2000). *Fundamentos de Fitotecnología de Productos Fitoterapéuticos*. Ed. Convenio Andrés Bello. Bogotá, Colombia. 230p.
- Vargas, W. (2002). *Guía ilustrada de las plantas de las montañas del Quindío y los Andes Centrales*. Ed. Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. 813 pp.
- Yao, X., Ye, F., Zhang, M., Cui, C., Huang, B., y Niu, P. (2020). In Vitro Antiviral Activity and Projection of Optimized Dosing Design of Hydroxychloroquine for the Treatment of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clinical Infectious Diseases*, 71(15):732-739. doi:10.1093/cid/ciaa237

Citar como:

López-Medina, E.; Mostacero León, J., Costilla-Sánchez, N.; Gil-Rivero, E.; De La Cruz-Castillo, A.; Villena-Zapata, L. 2020. Cuantificación de alcaloides de *Ladenbergia oblongifolia* (Humb. ex Mutis) L. Andersson "árbol de la quina". *REBIOL* 40(2): 170-176. DOI: <http://dx.doi.org/10.17268/rebiol.2020.40.02.05>.