

Artículo Original

CARACTERIZACIÓN TAXONÓMICA Y FITOQUÍMICA DE *Cinchona pubescens* Y *Ladenbergia oblongifolia* EN EL ÁMBITO DEL VALLE ALTO HUALLAGA – REGIÓN HUÁNUCO

TAXONOMIC AND PHYTOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF *Cinchona pubescens* AND *Ladenbergia oblongifolia* IN THE UPPER HUALLAGA VALLEY AREA - HUANUCO REGION

John R. Remuzgo Foronda¹, Jorge B. Alvarez Melo², Francisco Sales Dávila¹,
Glaucio Valdivieso Arenas¹

¹ Dirección de Investigación en Manejo Integral del Bosque y Servicios Ambientales, Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. IIAP - Tingo María, Huánuco - Perú

² Facultad de Recursos Naturales Renovables, Universidad Nacional Agraria de la Selva. UNAS - Tingo María, Huánuco - Perú

* Autor de correspondencia: autor.correspondencia@gmail.com

John Richard Remuzgo Foronda :  <http://orcid.org/0000-0002-7964-8859>
Jorge Birino Alvarez Melo :  <http://orcid.org/0000-0002-9103-7460>
Francisco Sales Dávila :  <http://orcid.org/0000-0001-9541-8589>
Glaucio Antonio Valdivieso Arenas :  <http://orcid.org/0000-0003-2624-3193>

Recibido: 27 de agosto 2020 / Aceptado: 31 de diciembre 2020

RESUMEN

La familia Rubiaceae presenta especies que contienen alcaloides en la corteza, raíces, hojas, flores, frutos, semillas y polen. Muchas especies del género *Cinchona* y *Ladenbergia*, son fuentes de quina, remedio de origen natural para controlar la malaria. Los objetivos del estudio fueron realizar la caracterización taxonómica de *Cinchona pubescens* y *Ladenbergia oblongifolia*, cuantificar los alcaloides en hojas mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y determinar el perfil químico en muestras de corteza mediante HPLC acoplada a Espectrometría de Masas (LC-MS). Se ha corroborado la clasificación taxonómica a partir de muestras dendrológicas. Asimismo, se determinó presencia de cinchonidina, quinidina y quinina en muestras de hojas de *C. pubescens* y *L. oblongifolia*. No se detectó presencia de cinchonina en las muestras evaluadas. Se encontró que un g de muestra de hojas de *C. pubescens*, contiene 0,64 µg de alcaloide, de las cuales, 0,18 µg corresponden a cinchonidina, 0,40 µg de quinidina y 0,06 µg de quinina. Un g de muestras de hojas de *L. oblongifolia*, contiene 0,99 µg de alcaloides, de los cuales, 0,24 µg son de cinchonidina, 0,40 µg de quinidina y 0,35 µg de quinina. El contenido de alcaloides totales fue del 0,0064%, del cual, 28,13% es cinchonidina, 62,50% es quinidina y 9,38% es quinina. En la corteza de *C. pubescens* se ha identificado hasta 55 compuestos entre derivados del ácido benzoico, flavonoles, catequinas, antocianinas y triterpenos derivados del ácido quinóico.

Palabras Claves: Caracterización, alcaloides, perfil químico, *Cinchona*, *Ladenbergia*

ABSTRACT

The Rubiaceae family has species that contain alkaloids in the bark, roots, leaves, flowers, fruits, seeds and pollen. Many species of the genus *Cinchona* and *Ladenbergia* are sources of cinchona, a natural remedy to control malaria. The objectives of the study were to carry out the taxonomic characterization of *Cinchona pubescens* and *Ladenbergia oblongifolia*, quantify the alkaloids in leaves using high-performance liquid chromatography (HPLC) and determine the chemical profile in bark samples using HPLC coupled to Mass Spectrometry (LC-MS). The taxonomic classification has been corroborated from dendrological samples. Likewise, the presence of cinchonidine, quinidine and quinine was determined in leaf samples of *C. pubescens* and *L. oblongifolia*. The presence of cinchonine was not detected in the evaluated samples. It was found that one g of *C. pubescens* leaf sample contains 0.64 µg of alkaloid, of which 0.18 µg correspond to cinchonidine, 0.40 µg of quinidine and 0.06 µg of quinine. One g of *L. oblongifolia* leaf samples contains 0.99 µg of alkaloids, of which 0.24 µg are cinchonidine, 0.40 µg quinidine and 0.35 µg quinine. The content of total alkaloids was 0.0064%, of which 28.13% is cinchonidine, 62.50% is quinidine and 9.38% is quinine. In the cortex of *C. pubescens*, up to 55 compounds have been identified including benzoic acid derivatives, flavonols, catechins, anthocyanins and triterpenes derived from quinovic acid.

Keywords: Characterization, alkaloids, chemical profile, *Cinchona*, *Ladenbergia*

1. INTRODUCCIÓN

La familia Rubiaceae es una de las más diversas a nivel mundial, ocupa el cuarto lugar después de Asteraceae, Orchidaceae y Poaceae. Presenta unos 500 géneros con alrededor de 10 700 especies, con mayor presencia en las regiones tropicales y subtropicales, especialmente abundante en el norte de América del Sur (Mostacero et al., 2002, citado en Castillo, 2014). Asimismo, es la más representativa de la flora amazónica peruana, por presentar muchas especies, que ha hecho que la sistematización sea muy complicada (Zevallos, 1989, citado en Castillo, 2014).

Además, presenta especies con importancia económica y social, pues producen tintes, sustancias médicas, productos comestibles o maderables. Muchas Rubiaceae producen alcaloides que se encuentran en la corteza, raíces, hojas, flores, frutas, semillas y polen. Algunos géneros que producen alcaloides son: Coutarea, Barreria, Ferdinandusa, Genipa, Hiflia, Ladenbergia, Psychotria, Remijia, Tocoyena. Muchas especies del género Cinchona y Ladenbergia, podrían ser fuentes de quina, el único remedio de origen natural y biológico para contrarrestar la malaria (Teran, 2006). Las dos especies más estudiadas son *Cinchona calisaya* y *Cinchona officinalis*, sus alcaloides fueron aislados y caracterizados por HPLC. Se han aislado más de 25 alcaloides siendo la quinina y quinidina los alcaloides más importantes. Entre estos dos se ha obtenido la mayor producción comercial: al año 1988 la producción estimada era de 300 a 500 toneladas por año, lo cual significa que debieron procesar entre 5 a 10 mil toneladas de corteza de cinchona.

(Mendoza et al., 2004), mencionan que Cinchona es un género afín a Ladenbergia, y se diferencia por la dehiscencia de los frutos los que abren desde la base hacia el ápice. Las especies de Cinchona fueron muy utilizadas durante la época de la colonia para extraer la quina, con la cual se combatían diferentes enfermedades como la fiebre amarilla. Esto llevó al desarrollo de muchos trabajos desde esa época, en su mayoría enfocados en aspectos farmacéuticos. Otros usos que tiene este género son: gripes crónicas, acelerante del parto, tónico capilar (Castillo, 2014).

Según (Córdor et al., 2009), a partir de tallos de *Cinchona pubescens* se aisló la quinina, identificada mediante sus espectros de masas, a través de Resonancia Magnética Nuclear de Nitrógeno (RMN H), Resonancia Magnética Nuclear de Carbono (RMN C). Además, realizó el análisis cualitativo de metabolitos secundarios presentes en sus tallos, según el procedimiento de (Miranda, 2002), verificando la presencia de alcaloides primarios y/o secundarios, grupos fenólicos libres, taninos, triperenos y esteroides, quinonas antraquinonas, catequinas, flavonoides, saponinas, glicósidos cardiotónicos y aminoácidos libres. De igual manera, (Mendoza, 2004), aisló alrededor de 25 alcaloides de varias especies de Cinchona, siendo los más importantes la quinina y la quinidina, mediante HPLC. Estos dos alcaloides son los de mayor producción comercial: al año 1988 la producción estimada fue de 300 a 500 toneladas por año, lo cual significa que debieron procesarse entre 5 a 10 mil toneladas de corteza de Cinchonas.

(INDECOPI, 2018), menciona que *Cinchona pubescens* Vahl, cuyo nombre común es: Árbol de quinina, quina roja, cascarilla, quina, es la que tiene mayor área de distribución geográfica. Es una especie muy robusta que se utilizaba como patrón de injerto. El contenido en alcaloides totales fue del 3,8%, de ellos menos de 50% de quinina.

La corteza de árboles de Cinchona contiene alcaloides (quinina, quinidina, cinchonina y cinchonidina, los cuales se utilizaron por cerca de cuatro siglos como el único tratamiento efectivo contra la malaria (Aymard, 2019). Hasta que, en 1940, la cloroquina y otros compuestos antimaláricos fueron sintetizados y desarrollados (Newman et al., 2000, citado en Aymard, 2019). Las cortezas de *Cinchona calisaya* Wedd. ("Quina corteza amarilla"), producen la mayor cantidad de alcaloides (Nair, 2010, citado en Aymard, 2019). Asimismo, se conoce que la corteza de otros géneros de la tribu Cinchoneae (Ladenbergia, Pimentelia y Remijia), también contienen alcaloides efectivos para el tratamiento contra la malaria (Cosenza et al., 2013, citado en Aymard, 2019).

El género Cinchona comprende varias especies, llamadas "cascarilla", casi todas contienen quinina, alcaloide de propiedades antifebrífugas, siendo la más importante desde el punto de vista medicinal *C. officinalis*, cuya corteza produce un promedio de 40% de alcaloides cristalizables y 1% de sulfato de quinina (Amilcar, 1989). Además, (Barukcic y Sola, 2015), identificaron y cuantificaron presencia de quinina y de otros metabolitos, en tallos de *C. pubescens* Vahl., encontrando un alto contenido de quinina (21,3 +/- 0,0247 ppm).

El conocimiento del contenido de alcaloides permitiría tomar decisiones sobre la propagación masiva de la mejor especie para fines de asociación en sistemas agroforestales, forestales y de restauración de bosques. Es por ello, los objetivos fueron realizar la caracterización taxonómica de *Cinchona pubescens* y *Ladenbergia oblongifolia*, cuantificar la presencia de alcaloides en muestras de hojas mediante Cromatografía HPLC y determinar el perfil químico en muestras de corteza mediante HPLC acoplada a Espectrometría de Masas (LC-MS).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

El material biológico utilizado estaba conformado por muestras de hojas, ramas y cortezas de *Cinchona pubescens* Vahl. y *Ladenbergia oblongifolia* (Humb, ex. Mutis) L. Anderson (figura 1), las cuales, fueron colectadas en el ámbito del sector Alto Azul, distrito La Morada, provincia Maraón, región Huánuco y Bosque Reservado de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), ubicado en la ciudad de Tingo María, distrito Rupa Rupa, provincia Leoncio Prado, región Huánuco (figura 2). La identificación taxonómica se realizó en el Herbario HTIN de la Facultad de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional Agraria de la Selva- UNAS, aplicando el método de observación y comparación de características y componentes vegetativos (ramas y hojas) y componentes propagativos (flores y frutos).



Figura 1. Colecta de muestras de hojas, frutos y cortezas

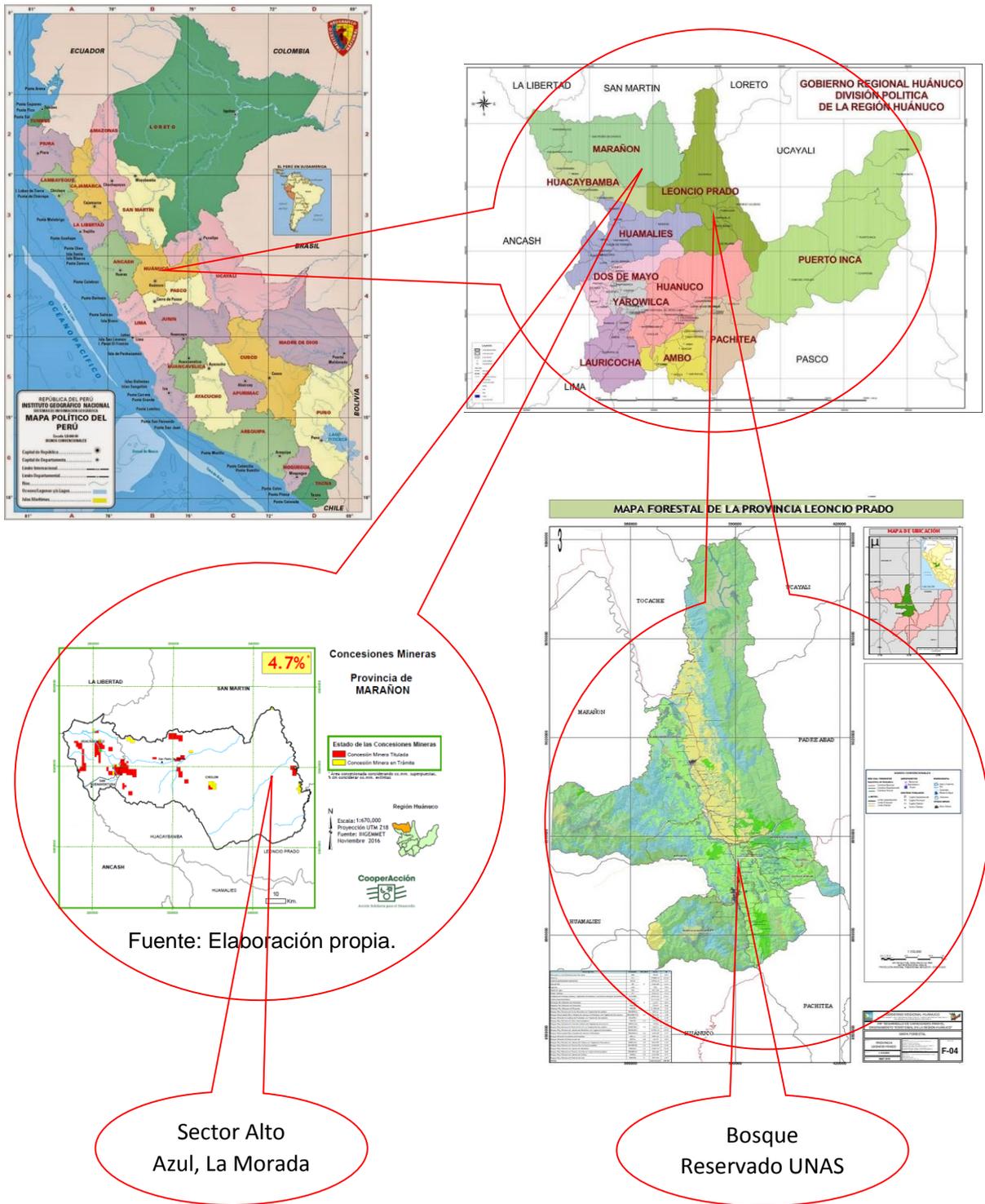


Figura 2. Zonas con mayor presencia de *Cinchona pubescens* y *Ladenbergia oblongifolia* (donde se realizó la colecta de muestras).

Colecta de muestras

Se realizó un mapeo preliminar que consistió en la ubicación de zonas con presencia de individuos de las especies en estudio, luego se efectuó la descripción fenotípica de los árboles, además de la caracterización física de calidad de sitio (fisiografía, composición florística, altitud, accesibilidad). Las muestras dendrológicas colectadas fueron desinfectadas con alcohol al 50%, finalmente se hizo limpieza de impurezas, acondicionamiento en prensas de madera y secado al ambiente, para su correspondiente identificación en el Herbario HTIN de la Facultad de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional Agraria de la Selva. Asimismo, las muestras de corteza de árboles muestreados y evaluados en campo, fueron desinfectadas con alcohol al 50%, tal como se muestra en la figura 3.



Figura 3. Georeferenciación y acondicionamiento de muestras en campo

Análisis fitoquímico de muestras en laboratorio

Se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales, de la Facultad de Ciencias y Filosofía Alberto Cazorla Talleri de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, para el análisis fitoquímico de muestras dendrológicas, mediante HPLC.

La metodología consistió básicamente en: pesar 10 g de muestra, luego se extrajo con 30 ml de diclorometano durante 20 minutos por 2 veces, después, se centrifugó a 5000 rpm durante 10 minutos, además, se juntaron las soluciones y fueron evaporadas en rotavapor, también, se disolvió el extracto alcaloidal en 20 ml de HCl 5% y se filtró. Se llevó a pH 9 con amoníaco al 5%, luego se colocó en una pera de separación y se extrajo con 10 ml de diclorometano por 3 veces. Se juntó las fases orgánicas y se evaporó en el rotavapor. El residuo fue disuelto con 1 ml de metanol, la solución obtenida fue inyectada en el equipo UHPLC Thermo Scientific modelo Ultimate 3000. Columna Kromasil Etwenty XT-1,8-C18 (2,1 x 100mm). Fase móvil (sistema isocrático): 0,2 M buffer de formato de amonio al 0,1% ácido fórmico- Metanol (65:35). Longitud de Onda: 250 nm. Volumen de inyección: 3 µl. Temperatura de columna: 30 °C. Tiempo de corrida 30 minutos.

Además, con las muestras de cortezas secas se realizó el análisis del perfil químico o identificación putativa de compuestos presentes en las muestras de *C. pubescens* y *L. oblongifolia*, por medio de Cromatografía Líquida de Ultra Alta Performance, acoplada a Espectrometría de Masas, utilizando para ello: Cromatógrafo UPLC, modelo: Dionex Ultimate 3000 UHPLC system (Thermo Scientific). Volumen de inyección: 4 µl. Columna: Luna® Omega C18 100 Å, Phenomenex (150 mm x 2,1 mm x 1,6 µm). Temperatura de columna: 30 °C. UV: 240, 280, 320 nm. Flujo: 0,3 ml/min. Temperatura de inyección: 18 °C.

Procesamiento y sistematización de datos

Los datos obtenidos en campo, gabinete y laboratorio, fueron digitalizados, sistematizados y analizados, en función a los objetivos planteados, con la finalidad de obtener los resultados esperados, correspondientes a los ámbitos descritos anteriormente.

3. RESULTADOS

Caracterización taxonómica de *C. pubescens* y *L. oblongifolia*

a) *Cinchona pubescens*

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Rubiales
Familia:	Rubiaceae
Subfamilia:	Cinchonoideae
Tribu:	Cinchoneae
Género:	Cinchona
Especie:	<i>Cinchona pubescens</i> Vahl. 1790

La corteza externa es de color marrón oscuro, ligeramente fisurada y desprende pequeñas placas en forma irregular. Las hojas varían en forma desde casi orbiculares o lanceoladas; algunas son pubescentes; otras son lisas, tienen una vena media bien desarrollada con venas laterales más o menos prominentes, son simples, opuestas y recusadas, de forma elíptico-ovalada; sus dimensiones son de 8 a 27 cm de largo y 7 a 18 cm de ancho.

Las flores se encuentran en panículas terminales de 20 a 25 cm de longitud, son hermafroditas, actinomorfas; la corola es blanca-roja. Los frutos son cápsulas de color marrón oscuro, de forma elipsoide, dehiscente. Las semillas son fusiformes, redondeada por un ala membranosa, son de 7-10 mm de largo, 2-3 mm de ancho y son ligeras para su tamaño, puesto que un gramo puede contener en promedio 4 000 semillas.

a) *Ladenbergia oblongifolia*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Rubiales
Familia	Rubiaceae
Género	Ladenbergia
Epíteto específico	oblongifolia
Autor	(Humb. ex Mutis) L. Andersson
Especie	<i>Ladenbergia oblongifolia</i> (Humb. ex Mutis) L. Andersson

Arboles pequeños o arbustos. Estípulas libres, o parcialmente soldada entre sí, caducas. Hojas opuestas. Tirso umbeliformes terminales, flores blancas 4, 5, 6 meras, hermafroditas, aromáticas. Estambres subsésiles, situados hacia el extremo del tubo o en la mitad inferior. Ovario bilocular de cavidades plurióvuladas. Cápsula leñosa o coriácea; las valvas permanecen unidas por la cúspide. Semillas aladas muy pequeñas que en un gramo puede contener 1 500 a 2 500 semillas.

Caracterización cualitativa de alcaloides en muestras de hojas de *Cinchona pubescens* y *Ladenbergia oblongifolia*

La tabla 1 muestra los resultados de la detección de alcaloides en las muestras de hojas secas pulverizadas de *C. pubescens* y *L. oblongifolia*, en el que, para ambas especies se ha registrado presencia de tres (03) alcaloides principales que son: quinina, quinidina y cinchonidina.

Tabla 1. Caracterización cualitativa de alcaloides en hojas de *Cinchona pubescens* y *Ladenbergia oblongifolia*.

Alcaloide	Presencia del alcaloide en la especie	
	<i>Cinchona pubescens</i>	<i>Ladenbergia oblongifolia</i>
Quinina	SI	SI
Quinidina	SI	SI
Cinchonina	ND*	ND*
Cinchonidina	SI	SI

ND = No detectado.

Las estructuras de las hojas de las mencionadas especies, no cuentan con el alcaloide cinchonina; sin embargo, en estudios realizados por otros investigadores, han detectado presencia de cinchonina en cortezas del tronco y ramas muestreadas.

Caracterización de alcaloides en muestras de hojas de *C. pubescens* y *L. oblongifolia*

En la figura 4 se presenta la cuantificación de alcaloides detectados en las muestras de hojas evaluadas, donde se observa que, en un g de muestra de *C. pubescens*, se ha detectado 0,64 µg de alcaloide, de las cuales, 0,18 µg corresponden a cinchonidina, 0,40 µg de quinidina y 0,06 µg de quinina. No se ha detectado presencia del alcaloide cinchonina.

En este sentido, mediante la cuantificación de alcaloides de las muestras de hojas de *Ladenbergia oblongifolia*, se observa que, en un g de muestras de hojas secas y pulverizadas de dicha especie, se ha detectado 0,99 µg de alcaloides, de los cuales, 0,24 µg son de cinchonidina, 0,40 µg de quinidina y 0,35 µg de quinina. Igualmente, que la anterior especie, no se ha detectado presencia de cinchonina.

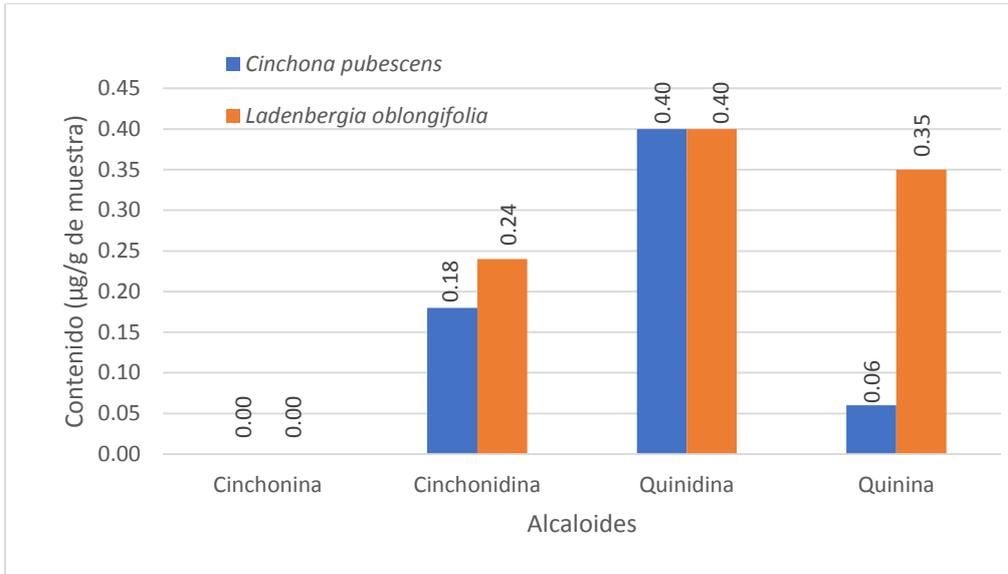


Figura 4. Contenido de alcaloides en hojas de *C. pubescens* y *L. oblongifolia*.

En consecuencia, en la figura 5, se muestra el porcentaje de alcaloides detectados por g de muestras de hojas pulverizadas y evaluadas, donde se observa que, la muestra de *C. pubescens* contiene un total de 0,0064% de alcaloide por g de muestra evaluada, de los cuales, el 0,0018% corresponde a cinchonidina, el 0,0040% a quinidina y el 0,0006% a quinina.

En la muestra de *L. oblongifolia*, se observa que, contiene un total de 0,0198% de alcaloides, de los cuales, el 0,0048% corresponde a cinchonidina, el 0,0080% a quinidina y el 0,0070% a quinina.

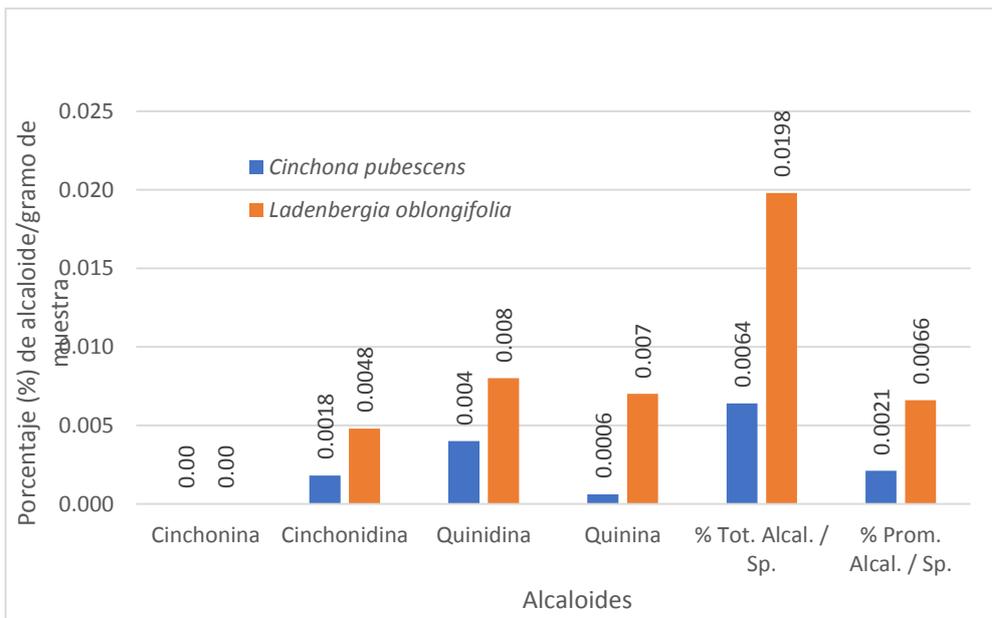


Figura 5. Porcentaje de alcaloides detectados por gramo de muestras de hojas.

La figura 6, muestra que, de 0,0064% de alcaloides detectados en las muestras de hojas secas y pulverizadas de *C. pubescens*, el 28,13% corresponde a cinchonidina, el 62,50% a quinidina y el 9,38% a quinina, mientras que, de 0,0198% de alcaloide en la muestra de *L. oblongifolia*, el 24,24% corresponde a cinchonidina, el 40,40% a quinidina y el 35,35% a quinina.

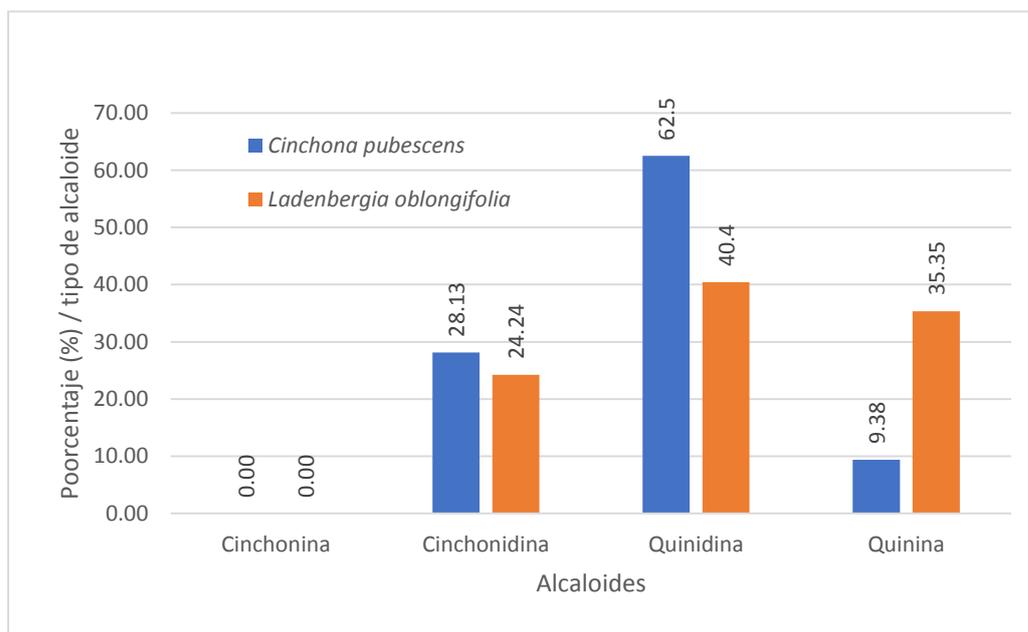


Figura 6. Porcentaje (%) por tipo de alcaloide por gramo de muestra evaluada

3.4. Determinación del perfil químico en muestras de cortezas de *C. pubescens* y *L. oblongifolia*

La determinación del perfil químico de compuestos, que consiste básicamente en la identificación putativa de ellos, por medio de HPLC-MS, fue realizada en muestra secas de cortezas de *C. pubescens* y *L. oblongifolia*, obteniendo los siguientes resultados:

Muestras de corteza de *Cinchona pubescens*

El análisis mediante HPLC-MS de la corteza de *C. pubescens* dio como resultado la identificación de 55 compuestos distribuidos entre derivados del ácido benzoico, flavonoles, catequinas, antocianinas y triterpenos derivados del ácido quinóico.

La técnica fue monitoreada y evaluada en función a estándares secundarios de alcaloides (Hioscina-N-butilbromuro, Cincocaína y Brucina) y la materia prima vegetal (extracto hidroalcohólico entre otros, de corteza de *C. pubescens* Vahl. en polvo), respectivamente. El método fue comparado con la metodología clásica para alcaloides totales, aplicada en las materias primas vegetales. Se procedió a preparar un extracto crudo de alcaloides, asumiendo que estos últimos se podrían encontrar en bajas concentraciones con respecto a los otros compuestos encontrados, sin embargo, el análisis mediante LC-MS de este extracto tampoco dio resultados.

Muestras de corteza de *Ladenbergia oblongifolia*

Se identificaron 59 compuestos entre derivados del ácido benzoico, iridoides, flavonoles, antraquinonas, alcaloides, triterpenos derivados del ácido quinóico y algunos ácidos grasos. Al

igual que en la muestra de corteza seca de *C. pubescens* se han detectado otros compuestos que aún no son descritos en el campo de los productos naturales.

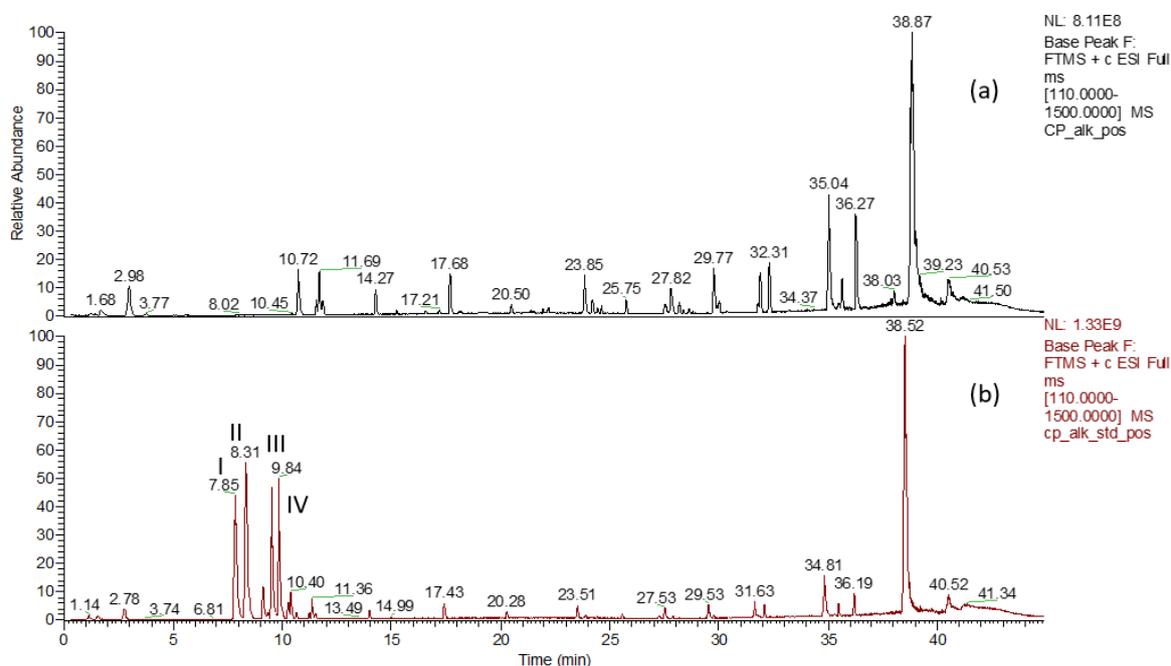


Figura 7. Cromatogramas de: extracto crudo de alcaloides de Corteza seca de *Cinchona pubescens* (a) y extracto crudo de alcaloides de Corteza seca de *Ladenbergia oblongifolia* (b) y estándares de cinchonina (I), cinchonidina (II), quinidina (III) y quinina (IV).

Leyenda: Los picos o señales de ambos cromatogramas representan la abundancia relativa de cada compuesto analizado.

El procedimiento se basó en la cuantificación indirecta de bismuto del reactivo de Dragendorff, el cual forma un complejo con los alcaloides. Se evaluaron las condiciones óptimas para la precipitación de los alcaloides con el mencionado reactivo, los agentes para el aislamiento del bismuto de dicho precipitado, el reactivo cromogénico para cuantificar el bismuto y sus parámetros de medición (longitud de onda óptima y pH).

En este sentido, se obtuvieron buenos valores de recuperación de alcaloides y de repetibilidad de resultados (RSD) con los estándares secundarios.

4. DISCUSIÓN

Un aspecto muy importante es el análisis realizado por (Hoet et al., 1980) mediante el método de Bruselas - 1948, el cual, proporcionó 0,02% y 0,08% de los alcaloides totales en dos muestras de *Cinchona pubescens*, colectada en la Convención (Cusco) y en San Ignacio (Cajamarca). Al respecto, (Loayza et al., 2010), afirman que, a partir de los tallos de *C. pubescens* se aisló la quinina, la cual, se identificó mediante sus espectros de masas, RMN1H, RMN13C y 1H-1H COSY. Se realizó el análisis cualitativo de los metabolitos secundarios (marcha fitoquímica) presentes en los tallos de la *C. pubescens* según el procedimiento de (Rondina y Coussio 1969 citado en Lezcano, 2012) y (Miranda, 2002), habiéndose verificado la presencia de: alcaloides, aminogrupos primarios y/o secundarios, grupos fenólicos libres, taninos, triterpenos y esteroides, quinonas, antraquinonas, antronas o antranoles, saponinas, flavonoides, leucoantocianidinas, catequinas, flavonoides, saponinas, glicósidos cardiotónicos, aminoácidos libres o aminas en general.

En consecuencia comparando los resultados descritos en párrafos anteriores, afirmamos que *L. oblongifolia*, contiene 0,06 µg más de cinchonidina que *C. pubescens*, mientras que, el contenido de quinidina, ambas especies contienen la misma cantidad (0,40 µg/gramo de muestra evaluada). Además, respecto al contenido de quinina, la muestra evaluada de *L. oblongifolia* contiene 0,29 µg más de quinina, que la muestra de *C. pubescens*, por gramo de muestra pulverizada. Es decir, las hojas de *L. oblongifolia*, contiene 0,35 µg más de alcaloides, que las hojas de *C. pubescens*, con un promedio de 0,21 y 0,33 µg de alcaloide, respectivamente.

Publicaciones referidas a *C. pubescens* tratan del aislamiento e identificación de los alcaloides en diversos órganos de la planta obtenidos mediante cultivo celular. Los alcaloides quinina (1a) y quinidina (1b), en la corteza de Cinchona se encuentran metoxilados: cinconidina (1c) y cinconina (1d), figura 1. En la estructura de estos alcaloides quinolínicos se ha considerado la numeración de Rabe, la cual es la más utilizada en la literatura química y farmacológica, y es la que fue utilizada en el trabajo realizado por (Loayza et al., 2010).

Por tanto, se puede adoptar fácil y cómodamente como un método para la determinación de quinina no sólo en la especie *C. pubescens* sino para otras especies de este mismo género, incluso para posteriores estudios farmacológicos, e incluso como un método de identificación de los principales componentes de especies de género Cinchona en diversos procesos biotecnológicos que incluyen órganos de las plantas obtenidos mediante cultivo celular in vitro, tal como menciona (Verpoorte et al., 1988; Verpoorte et al. 1991, citados en Mesa-Vanegas et al. 2013), quienes indican que, las publicaciones referidas a *C. pubescens* tratan la parte cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en esta especie, en los cuales, hay presencia de la quinina como uno de los metabolitos, tipo alcaloide, característico de este género, tal como menciona (Cóndor et al., 2009, citado en Mesa-Vanegas et al., 2013).

En este sentido, en la actualidad, son pocos los reportes que se realizan de estas plantas, un número de procedimientos cromatográficos diferentes han sido desarrollados para la determinación cualitativa y cuantitativa de quinina, la cual, fue manifestada por (Mesa-Vanegas et al., 2013), quienes, finalmente, dicen que el análisis de estos compuestos en una variedad de matrices se realiza mediante cromatografía de alta resolución (HPLC) en fase reversa, utilizando columnas C18 en combinación con fases móviles ácidas, y la detección mediante ultravioleta visible (UV).

La *C. pubescens*, ha sido poco estudiada desde un punto de vista químico y biológico, tal como mencionan (Mendoza et al., 2004, citado en Mesa-Vanegas et al., 2013). Por lo que, en su trabajo, obtuvieron extractos de diferente polaridad a partir de los tallos de la planta *C. pubescens*, se cuantificó el contenido de quinina presente en estos. Al respecto, (Trujillo, 2013), realizó una investigación denominada: Desarrollo de un método analítico basado en espectrofotometría visible para la cuantificación de alcaloides totales en materia prima vegetal, utilizando para ello, entre otras, cortezas de *C. pubescens*.

Además, (Mesa-Vanegas et al., 2013), realizaron una investigación denominada: euantificación de quinina en extractos de *C. pubescens* y evaluación de la actividad antiplasmodial y citotóxica, a partir del cual, determinaron que, esta especie es una fuente potencial de nuevas plantillas estructurales en la búsqueda de nuevos candidatos antimaláricos, cuyos objetivos fueron la identificación y, cuantificación de la quinina y de otros metabolitos presentes en los extractos de diferente polaridad, de los tallos de *C. pubescens* Vahl., el aislamiento del ácido oxoquinóvico, la actividad antiplasmodial y, además, la medición de su efecto citotóxico.

Sin embargo, la mayoría de especies de la familia Rubiaceae, contienen quinina, quinidina, cinconina y cinconidina, los cuales, varían en su contenido en la corteza, con un porcentaje entre el 7-12%, con una distribución porcentual de 70-90% quinina, 1-3% de cinconidina y hasta 1% de quinidina, tal como menciona (McCalley et al., 2002, citado en Mesa-Vanegas et al., 2013), también mencionan que, existen otros alcaloides minoritarios que son precursores de la formación de los alcaloides mayoritarios en las distintas rutas biogénicas como el triptófano, ácido quínico, entre otros.

Por otro lado, (Mendoza et al. 2004, citado en Mesa-Vanegas et al., 2013), aislaron y caracterizaron uno de los compuestos de mayor abundancia en el extracto de diclorometano y se

determinó el potencial antiplasmodial sobre cultivos continuos de cepas de *P. falciparum* NF-54 sensible a la cloroquina, y su efecto citotóxico en células HepG2, con el fin de contribuir a la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas para la malaria y así mismo, contribuir al fortalecimiento de los estudios de especies de género *Cinchona* como fuente importante de quinina y nuevos antimaláricos naturales, además de promover la conservación y preservación de estas especies. En este sentido, (Loayza et al., 2010), mencionan que en el Perú se bebe la decocción en casos de arritmias cardíacas, fiebre, calambres musculares, resfríos e indigestión. La etnia *campa-asháninka*, perteneciente a la Amazonia peruana, emplea la decocción de corteza en el tratamiento de paludismo, reumatismo y diarreas. En la Amazonia Boliviana se emplea la corteza raspada y hervida con alcohol, como remedio antidiarreico.

Para descartar un problema con el método de análisis se procedió a inyectar el extracto crudo con una mezcla de estándares de cuatro alcaloides (quinina, quinidina, cinchonina, cinchonidina), en este caso las señales de los estándares fueron claras, tal como se muestra en la figura 3, respecto a cromatogramas de extracto crudo de alcaloides de corteza seca de *Cinchona pubescens* y de corteza seca de *Ladenbergia oblongifolia*. Además, (Mesa-Vanegas et al., 2013), afirman que, la explotación sostenible de la especie *C. pubescens* podría ser una estrategia en cuanto a la producción de los principios activos como la quinina, ya que podría disminuir de esta manera el impacto ecológico que genera.

Los resultados obtenidos por (Mesa-Vanegas et al., 2013), mencionan que de las cortezas de la planta *C. pubescens* se obtuvieron cinco extractos de diferente polaridad (hexano, diclorometano, acetato de etilo, metanol y etanol). Los porcentajes de material extractable mostraron mejores rendimientos para el extracto etanólico de *C. pubescens* con 1,49%, y para los extractos de diferente polaridad los mejores rendimientos se obtuvieron para el extracto metanólico con un 1,32%. Ninguna asociación se encontró entre los rendimientos de extracción y las pruebas biológicas que se realizaron.

5. CONCLUSIONES

Se caracterizó fenotípicamente árboles de *Cinchona pubescens* y *Ladenbergia oblongifolia*, corroborando su clasificación taxonómica a partir de muestras dendrológicas.

Se determinó la presencia de los alcaloides cinchonidina, quinidina y quinina en muestras de hojas secas pulverizadas de *Cinchona pubescens* y *Ladenbergia oblongifolia*. No se detectó la presencia de cinchonina.

Ladenbergia oblongifolia, contiene 0,06 µg más de Cinchonidina que *Cinchona pubescens*, en cuanto al contenido de quinidina, ambas especies contienen la misma cantidad (0,40 µg/gramo de muestra evaluada).

Ladenbergia oblongifolia contiene 0,29 µg más de quinina, que *Cinchona pubescens*, por gramo de muestra pulverizada. Es decir, *Ladenbergia oblongifolia*, contiene 0,35 µg más de alcaloides, que *Cinchona pubescens*, con un promedio de 0,21 y 0,33 µg de alcaloide, respectivamente.

En la corteza seca de *Cinchona pubescens* se identificaron 55 metabolitos secundarios, mientras que en *Ladenbergia oblongifolia* se identificaron 59 metabolitos secundarios conformados por compuestos derivados del ácido benzoico, iridoides, flavonoles, antraquinonas, alcaloides, triterpenos derivados del ácido quinóico y algunos ácidos grasos.

6. AGRADECIMIENTO

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, por el apoyo y las facilidades brindadas para la ejecución del trabajo de investigación a través de la Dirección Regional IIAP – Huánuco.

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por brindar las facilidades de ingreso a su Bosque Reservado (BRUNAS), para realizar parte del trabajo de campo.

Al Herbario HTIN de la Facultad de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por la identificación taxonómica de las muestras botánicas colectadas.

Al Ing. Wilfredo Alex Zúñiga Huamán, por el apoyo en la ubicación de los árboles e identificación preliminar de las especies en estudio y la elaboración de los mapas de las zonas de colecta.

Al Sr. Carlos Edmundo Muñoz Landa, titular de la Concesión Forestal con Contrato N° 10-TIM/C-J-003-03, por brindar las facilidades para ingreso a su concesión forestal a fin de realizar la colecta de muestras de hojas y cortezas de las especies evaluadas.

7. CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

John Richard Remuzgo Foronda: Planeamiento del estudio, diseño, análisis e interpretación de los datos, revisión crítica del contenido intelectual y aprobación definitiva de la versión que presenta.

Jorge Birino Alvarez Melo: Colecta de muestras dendrológicas, revisión crítica del contenido intelectual y aprobación definitiva de la versión que presenta.

Francisco Sales Dávila: Borrador del artículo, revisión crítica del contenido intelectual y aprobación definitiva de la versión que presenta.

Glauco Antonio Valdivieso Arenas: Borrador del artículo, revisión crítica del contenido intelectual y aprobación definitiva de la versión que presenta.

8. CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

9. FINANCIAMIENTO

El artículo es producto de un Proyecto Institucional financiado por el Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almilcar, P. P. (1989). Taxonomía, distribución geográfica y status del género *Cinchona* en el Perú. Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima – Perú. 76 pp.
- Aymard, G. (2019). Breve reseña de los aspectos taxonómicos y nomenclaturales actuales del género *Cinchona* (Rubiaceae – Cinchoneae). Artículo científico. Bogotá, Colombia. 8 pp. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1079>
- Barukcic, R., A.; Sola M., M. (2015). Desarrollo de formulaciones fito-cosméticas antioxidantes empleando como sustancia activa el extracto seco de *Cinchona pubescens* Vahl, Rubiaceae (Cascarilla). Tesis de Maestría. Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador. 240 pp. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/9377>
- Castillo, P. M. (2014). Estudio dendrológico de la familia Rubiaceae en la zona de Tingo María – Perú. Tesis FRNR - Universidad Nacional Agraria de la Selva. 177 pp. <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/600>
- Condor, C., E.; De Oliveira H., B.; Ochoa L., K. y Reyna P., V. (2009). Estudio químico de los tallos de *Cinchona pubescens* Vahl. Artículo científico. Lima, Perú. 10 pp. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v75n1/a08v75n1.pdf>
- Cosenza, G. P., N. S. Somavilla, C. W. Fagg y M. G. Brandão. (2013). Bitter plants used as substitute of *Cinchona* spp. (quina) in Brazilian traditional medicine. *J. Ethnopharmacol*, 149: 790-796.
- Hoet, P., Gomez, A. y Kanamori, C. (1980). Estudio cuantitativo de los alcaloides en *Cinchona* (Rubiaceae) del Perú. *Boletín Soc. Quím*, (Perú) 1980; 46: 298-309.

- INDECOPI. (2018). Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual. Comisión Nacional contra la biopiratería. Quina. Lima, Perú. 49 pp.
- Lezcano, Y., (2012) Caracterización cualitativa del contenido de metabolitos secundarios en la fracción comestible de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. Red de Rev. Científicas de América Latina, España y Portugal. Pastos y Forrajes, Vol. 35, No. 3. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=269125186004>.
- Loayza, O., K.; De Oliveira B., H.; Córdor C., E. y Reyna P., V. (2010). Estudio químico de los tallos de *Cinchona pubescens*. Artículo científico. Universidad Nacional de Ingeniería. Universidad Federal de Paraná. 6 pp. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v75n1/a08v75n1.pdf>
- Mendoza, H., Ramírez, B. y Jiménez, L. (2004). Rubiaceae de Colombia. Guía ilustrada de géneros. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. Bogotá, Colombia. 351 pp.
- Mesa-Vanegas, A., Quinto-Quinto, A., y Blair-Trujillo, S. (2013). Cuantificación de quinina en extractos de *Cinchona pubescens* y evaluación de la actividad antiplasmodial y citotóxica. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, vol. 12, núm. 6. Universidad de Santiago de Chile Santiago, Chile. pp. 592-602. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85629226004>
- Miranda, M., (2002). "Métodos de Análisis de Drogas y Extractos", Ed. Universidad de la Habana, La Habana, Cuba. 50 pp.
- Teran, J. J. (2006). Diversidad de la familia Rubiaceae en el Parque Nacional Carrasco (Limbo Palmar y Guacharos). Tesis Lic. en Biología. Cochabamba, Bolivia. 79 p. [En línea]: Monografías, <http://www.monografias.com/trabajos-pdf/diversidad-familia-rubiaceae/diversidad-familia-rubiaceae.pdf>, 10 ago. 2020.
- Trujillo, A., J. (2013). Desarrollo de un método analítico basado en espectrofotometría visible para la cuantificación de alcaloides totales en materia prima vegetal. Tesis UNMSM, Lima Perú. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/9430>

Citar como:

Remuzgo, J.; Alvarez, Alvaro, J.; Sales, F.; Valdivieso, G. 2020. Caracterización Taxonómica y Fitoquímica de *Cinchona pubescens* y *Ladenbergia oblongifolia* en el Ámbito del Valle Alto Huallaga – región Huánuco. REBIOL 42(2):242-255. DOI: <http://dx.doi.org/10.17268/rebiol.2020.40.02.11>.