

## CONTENIDO DE ALCALOIDES EN CORTEZA DE *Uncaria tomentosa* (Wild.) DC PROCEDENTE DE DIFERENTES HÁBITATS DE LA REGIÓN UCAYALI - PERÚ

Gilberto Domínguez Torrejón<sup>1\*</sup>, Juan de Jesús García Martín<sup>2</sup>,  
Deysi Guzmán Loayza<sup>3</sup>, Rosa Alanoca<sup>4</sup>

### RESUMEN

*Uncaria tomentosa* (Wild.) DC (uña de gato), es una especie que aporta cantidades suficientes de alcaloides oxindólicos pentacíclicos y tetracíclicos. En el presente trabajo se exponen los resultados comparativos entre los extractos obtenidos a partir de corteza de cuatro hábitats de esta especie. Se hace un análisis comparativo del comportamiento de la especie en diferentes altitudes y tipo de suelos de IAP-Pucallpa, Nuevo Ucayali, el Porvenir y Tres de Octubre y se reportan diferencias en la concentración de alcaloides en la corteza de estas localidades. Se evalúa también los métodos ácido y alcalino de extracción de alcaloides.

**Palabras clave:** *Uncaria tomentosa*, alcaloides, método alcalino

## ALKALOIDS CONTENT IN BARK OF *Uncaria tomentosa* (Wild.) DC FROM DIFFERENT HABITATS IN THE REGION UCAYALI - PERÚ

### ABSTRACT

*Uncaria tomentosa* (Wild.) DC, (cat's claw) is one of the most important species whose has been able to exhibit the pentahaclic and tetracaclic alkaloids. In this paper we report the comparative results between different extracts from bark of four different habitats. We have made a comparative study about the behavior of these species in different altitude and kinds of soils in IAP-Pucallpa, Nuevo Ucayali, El Porvenir, Tres de Octubre and we reported differences in the concentration of alkaloids in bark. Finally we test the extractive method in the isolation of alkaloids in the point of view acid and alkaline. The differences between those methods have been reported too.

**Key words:** *Uncaria tomentosa*, alkaloids, method alkaline

### INTRODUCCIÓN

*Uncaria tomentosa* (Wild.) DC tiene una amplia distribución geográfica, pero esto no garantiza, en condiciones naturales, la conservación de la diversidad genética<sup>1</sup>. La diversidad genética confiere adaptabilidad y potencial evolutivo a las especies que llevan tales genes. Por ello en primer lugar hay que mantener los componentes de la diversidad, después hay que estudiarlos y finalmente basándose en estos conocimientos, hay que utilizarlos sosteniblemente<sup>2</sup>.

<sup>1\*</sup> Universidad Nacional Agraria La Molina, código postal. 12056. Lima- Perú  
gdominguez@lamolina.edu.pe, Departamento de Manejo Forestal

<sup>2</sup> Universidad de Pinar del Río, Pinar del Río Cuba ilia@princesa.pri.sld.cu

<sup>3</sup> deysigl@lamolina.edu.pe, Laboratorio de Pulpa y Papel. Dpto. Industrias Forestales. UNALM

<sup>4</sup> Laboratorios Hersil- Lima-Perú.

Para aprovechar esta diversidad se requiere de un proceso de domesticación que facilite el mejoramiento genético para propiciar la producción sostenible de este recurso forestal no maderable. El problema fundamental radica en que la corteza, como principal materia prima de *Uncaria tomentosa* que se encuentra en el comercio, es significativamente heterogénea en cuanto a rendimiento y calidad de sustancias con actividad biológica, debido a la variabilidad de factores genéticos y de hábitat, que no son manejados en el proceso de extracción del bosque natural<sup>1</sup>.

La presente investigación tiene como objeto de estudio la corteza de plantas desarrolladas en bosques naturales con diferentes condiciones de hábitat, caracterizados por los niveles altitudinales y de precipitación en donde se han desarrollado<sup>3</sup>. Bajo esta premisa se ha propuesto el siguiente objetivo: Determinar el contenido y tipo de alcaloides presentes en la corteza de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC proveniente de cuatro condiciones de hábitat seleccionados.

El conocimiento del aspecto ecológico de la especie es el factor más importante para el manejo y la obtención de materia prima de calidad; pero en este caso es el tema menos estudiado. Los estudios en este campo se concentran principalmente en la caracterización del medio natural en donde la especie ha sido reportada a nivel de muestras dispersas de su amplia distribución. Algunos autores reportan estudios de determinación edafo climática en una sub cuenca de la amazonía peruana<sup>4</sup>, mientras que estudios de campo, realizados por otros, determinan una variada y compleja distribución y características de poblaciones de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC en el bosque natural<sup>1</sup>.

Existen muy pocas experiencias sobre manejo de la uña de gato en bosque primario, que es de donde proviene la mayor cantidad de corteza para la comercialización. Así, se describe una experiencia de manejo de la uña de gato para ser desarrollado en bosque primario<sup>5</sup>; sin embargo, el tipo de extracción aplicado y las condiciones de baja luminosidad no garantiza que el rebrote prospere por lo que se puede ocasionar la muerte de la planta y la disminución de población que es fuente de semillas y variabilidad genética<sup>6</sup>. De esta manera aún no se cuenta con mecanismos de control de la extracción de este recurso que disminuya los riesgos de su extinción por la sobre explotación, como también la desaparición del producto "uña de gato" en el mercado por la pérdida de credibilidad propiciada por la diversidad de calidades<sup>1</sup>.

En productos naturales de uso medicinal el aspecto más importante que se debe considerar es el contenido de sustancias químicas con actividad biológica representada por los metabolitos secundarios, entre los que se encuentran alcaloides, glicósidos, taninos, esencias y resinas. Todos estos componentes (excepto las resinas), se encuentran almacenados en el interior de la célula vegetal, encerrados en vacuolas especializadas ubicadas en cualquier parte de la planta<sup>7</sup>. Así se tiene que los alcaloides pueden concentrarse en hoja, corteza, tallo, raíz, etc.; su presencia depende del metabolismo del vegetal y éste es variable de una especie vegetal a otra, e inclusive, de una variedad a otra<sup>7</sup>.

En *Uncaria tomentosa*, ha sido observado que hay tres variedades de corteza que pueden tener relación con el clima; así, la variedad gris blanquecina suele estar en condiciones frías y secas, el tipo rojo oscuro en clima cálido y húmedo y la variedad marrón amarillenta entre ambas condiciones climáticas; afirman los autores que no encontraron correlación entre el color de la corteza de la raíz y su contenido de alcaloides<sup>8</sup>. Comparando las muestras de varias plantas individuales llegan a la conclusión de que cambian de un patrón alcaloide a otro con el transcurrir del tiempo y para diferentes épocas del año; asimismo, muestras de varias plantas individuales también tenían variaciones en sus patrones alcaloides<sup>8</sup>.

Otros estudios concluyen que el grosor de tallos no es un factor muy determinante. Sin embargo, la tendencia es de un mayor contenido de mitrafilina en los tallos jóvenes (ramas con espinas) y mucho mayor en las hojas y peciolo<sup>9</sup>.

En el caso de la uña de gato, los análisis químicos existentes no han sido en su conjunto sistemáticamente realizados; es por ello que se reportan variadas diferencias en el contenido fitoquímico; es decir, el material analizado proviene de orígenes diversos, en donde factores genéticos o ambientales pueden estar incidiendo en una mayor o menor producción diferenciada de alcaloides, o simplemente las metodologías de análisis químico son diferentes. Esta situación no permite un análisis comparativo de resultados que contribuya con más eficacia al conocimiento de la especie.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Características de la materia prima

Se hizo un trabajo previo de selección de lugares de colecta tomando en cuenta características climáticas generales de acuerdo a isotermas e isoyetas elaboradas por estudios realizados previamente<sup>10</sup>, complementado con información directa sobre el nivel altitudinal tomada en el trabajo de campo, tal como se muestra en la tabla 1. Con esta información se ubicaron bosques residuales en cuya composición florística se encuentre ejemplares de la especie en estudio<sup>3</sup>.

**Tabla 1.** Características climáticas de los lugares de cosecha

Parámetros	Localidades			
	IIAP Pucallpa	Nuevo Ucayali	El Porvenir	3 de octubre
Altitud (m.s.n.m.)	136	286	405	884
Precipitac. media anual (mm)	1324	4266	4471	4471
Temperatura media anual (°C)	25,07	24,06	24,98	24,98
Evapotransp.potencial (mm)	1150	1200	1200	1200

Las cosechas se realizaron manualmente utilizando machete y tijeras de podar, depositando el material de cada planta muestreada en envases de plástico separados, para garantizar la precisión de las mediciones y facilitar el transporte, conservación y procesamiento del material que será destinado a los análisis.

Para estos análisis se siguió una serie de procedimientos aplicados de acuerdo a los estándares establecidos para los estudios fitoquímicos de plantas medicinales sugeridas por el Centro de Productos Naturales de La Habana<sup>11</sup>.

### Tratamiento a la droga cruda

Posterior a la cosecha que se realizó el mismo día en los 4 lugares, se secó en horno solar; luego, molidas y tamizadas a 200 mallas para su conservación y estudios de control de calidad, cumpliendo con los requisitos exigidos por la farmacopea británica (BHP-2000) como son:

humedad gravimétrica menor a 10%; cenizas totales menor a 1%; cenizas insolubles en HCl menor a 0,02%; cenizas insolubles en agua menor a 0,1%; solubilidad óptima en etanol al 50%; ausencia de aflatoxinas por cromatografía de capa delgada semicuantitativa (T.L.C.), los cálculos se efectuaron según Norma NRSP-309/Cuba y la ISO 9014-Comité 54-Comision E.

### Extracción de alcaloides

Como prueba preliminar se aplicó el método de extracción ácida en donde se observaron pocos alcaloides con buena resolución; dos de ellos no estaban bien separados y otros se observaban deprimidos en los cromatogramas, frente a los del patrón secundario, por lo que fue necesario probar un nuevo método de extracción por la vía alcalina evaluándose los resultados por TLC, espectroscopía IR-TF, UV-visible (229 nm), HPLC-FR.

### Método alcalino

A partir del resultado de cromatografía de gas de muestras diferentes de corteza y el tamizaje fitoquímico por diferentes métodos (Dragendorff, Mayer, Wagner, Marquis), se trató de descubrir la presencia o no de alcaloides en muestras sometidas a análisis por HPLC. Se aplicó el método alcalino de extracción amoniacal por maceración en etanol + NH<sub>4</sub>OH + éter dietílico, utilizando un estándar secundario con igual tratamiento que la muestra y la misma instrumentación para HPLC fase reversa.

### Identificación de alcaloides por T.L.C., UV, IR-TF

Se aplicaron 10 µL de las muestras en placas de 20 x 20 F254 sílica gel de Merck, evaluándose los valores de R<sub>f</sub> de cada mancha, concordándose éstos con el patrón internacional de Wagner utilizado para alcaloides indólicos. Las manchas se rasparon, se eluyeron en metanol con AlCl<sub>3</sub> como desplazante y se encontraron las señales típicas de alcaloides oxindólicos a partir de longitudes de onda de 315 nm. Estos fueron corroborados por espectroscopía infrarroja en un equipo Varian IR-TF identificando cada grupo funcional característico en 3700-3200 cm<sup>-1</sup> para OH y NH<sub>2</sub>; 1780-1620 para CO, 1600, 1550-1500 cm<sup>-1</sup> para aromáticos y 900-800 cm<sup>-1</sup> para metoxilos y metoxilendioxo.

### Identificación de alcaloides clásicos por HPLC-FR

Cada muestra se evaluó por triplicado, reportándose los porcentajes de alcaloides por cada localidad estudiada. Se usó un estándar de 99-98% de pureza (Merck) los cuales aparecieron en el siguiente orden junto a la muestra (tabla 2):

**Tabla 2.** Alcaloides identificados en corteza de *Uncaria tomentosa* Wild DC

Orden	Tiempo de retención	Alcaloides
1	9,8 min	Especiofilina
2	12,2 min	Mitrafilina
3	13,2 min	Uncarina F
4	16,5 min	Pteropodina
5	17,3 min	Isomitrafalina
6	20,3 min	Rinchofilina
7	21,6 min	Isorinchofilina
8	27,1 min	Isopteropodina

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El método ácido aplicado para corteza en todas las muestras tuvo una baja efectividad; los cromatogramas respectivos mostraron en todos los casos un alcaloide mayoritario que, por el tiempo de retención, corresponde a la uncarina F (tetracíclico); la pteropodina e isomitrafalina aparecen en baja concentración en el caso de la localidad IIAP, mientras que en las otras tres localidades aparecen deprimidos.

**Tabla 3.** Concentración de alcaloides en corteza cosechada en diferentes hábitats (g/100g)

Alcaloides	Porcentajes			
	IIAP 136 msnm	Nuevo Ucayali 286 msnm	El Porvenir 385 msnm	Tres de Octubre 884 msnm
Especiofilina	0,016		0,959	0,257
Mitrafalina	0,412	0,286	* 1,124	* 3,904
Uncarina F	0,114	0,082	0,047	0,076
Pteropodina	* 2,816	* 10,828	0,421	1,398
Isomitrafalina				
Rincofilina	1,123			
Isorincofilina				
Isopteropodina				
TOTALES	4,481	11,196	2,551	5,635

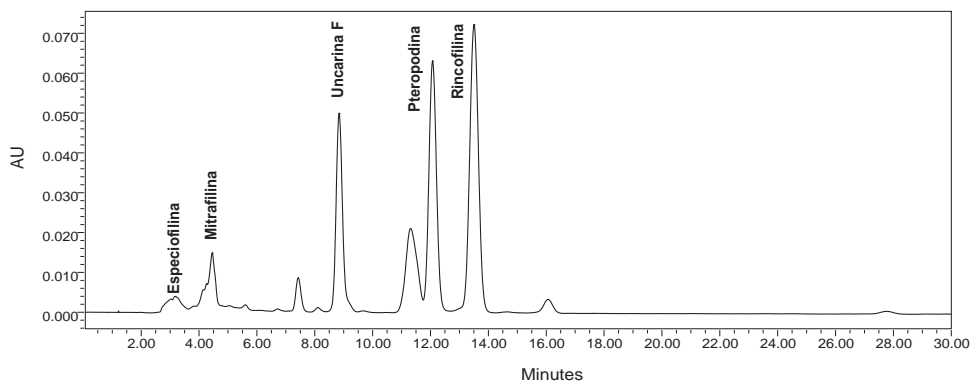
\* Alcaloide mayoritario en cada localidad

En la tabla 3 se muestra los contenidos promedio de alcaloide por cada localidad logrados con el método de extracción alcalino; los cromatogramas respectivos muestra los picos más definidos en todos los casos; sin embargo, los alcaloides mayoritarios son diferentes.

Así se tiene que para el caso de las localidades de IIAP y Nuevo Ucayali, el alcaloide mayoritario es la pteropodina (tetracíclico), con menor concentración en IIAP y alta concentración en Nuevo Ucayali, mientras que para El Porvenir y Tres de Octubre aparece como mayoritario la mitrafalina (pentacíclico); coincidentemente las dos primeras localidades se encuentran a una menor altitud (136 y 286 m.s.n.m.), mientras que las otras dos, relacionadas a la mitrafalina están a mayor altitud (385 y 885 m.s.n.m.). Esto puede indicar el efecto de la presencia de estos alcaloides con las características ambientales de cada localidad; se puede decir que en este caso, mayores concentraciones de alcaloides tetracíclicos se han presentado a menor altitud, mientras que los penta cíclicos se manifestaron en mayor concentración a mayores altitudes.

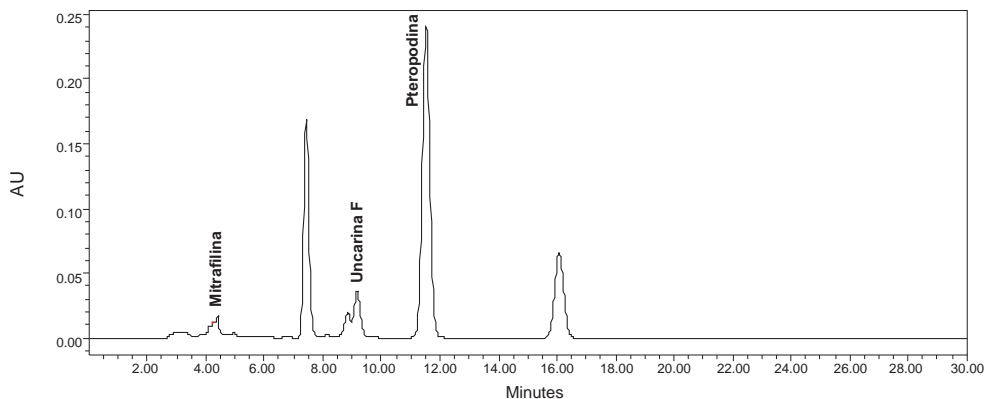
De otro lado, en cuanto a alcaloides totales, la menor concentración se presenta en las localidades de IIAP y El Porvenir; éstos tienen suelos más ácidos con mayor contenido de arena; mientras que los suelos de Nuevo Ucayali y Tres de Octubre tienen suelos con mayor contenido de arcilla, pH más alto, ligado a un mayor contenido de materia orgánica.

En la figura 1 se observan picos bien definidos pero a bajas concentraciones, en orden descendente la rincofilina como mayoritario, seguido de la pteropodina, a menor concentración la uncarina F, mitrafilina y especiofilina que aparece deprimida. Las condiciones de suelos ácidos y pobres en nutrientes caracterizan a esta localidad.



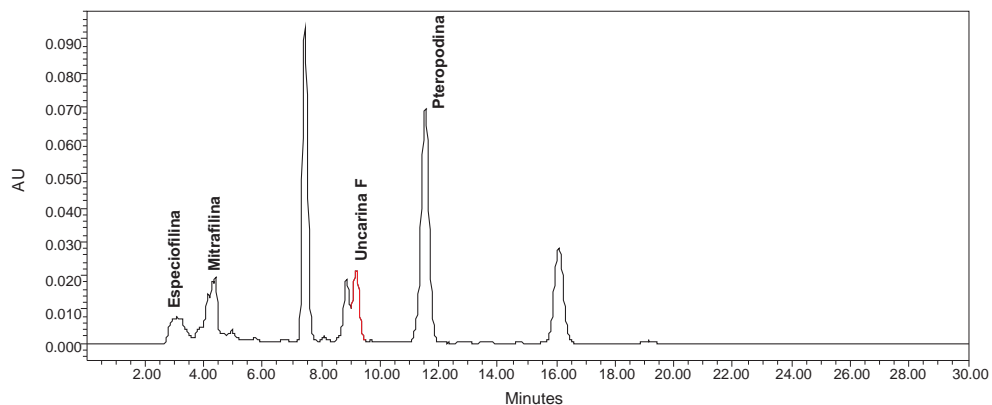
**Figura 1.** Extracción alcalina, localidad IIAP (136 msnm) (Muestra 2)

En la figura 2 se observa una alta concentración de pteropodina como mayoritario, y a baja concentración la mitrafilina; la uncarina F aparece deprimida.



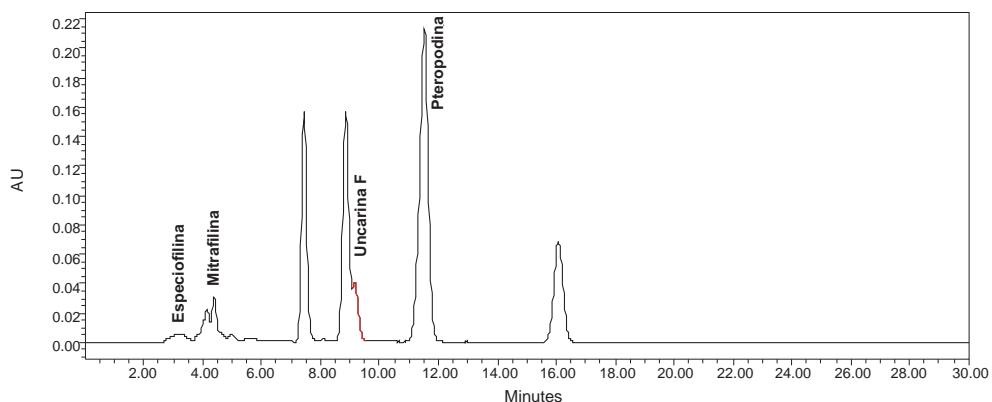
**Figura 2** Extracción alcalina, localidad Nuevo Ucayali (286 msnm) (Muestra 1)

A diferencia de la localidad IIAP, en la localidad El Porvenir (figura 3) se presenta la pteropodina como mayoritario. En el caso de IIAP el mayoritario es la rinchofilina, seguido de pteropodina y uncarina F (tetracíclico). Especiofilina y mitrafilina, se presentan a muy bajas concentraciones, igual que en IIAP y no aparece la rinchofilina a diferencia de IIAP que si se presenta, mientras que la uncarina F (tetracíclico), aparece algo deprimida en este caso, el cual sugiere la alta capacidad del método alcalino de deprimir tetracíclicos.



**Figura 3.** Extracción alcalina, localidad El Porvenir (385 msnm) (Muestra 4)

En la figura 4, se puede observar que el alcaloide mayoritario de esta localidad es también la pteropodina, seguido de la uncarina F (tetracíclico). A más baja concentración se presenta la mitrafilina, mientras que la especiofilina aparece muy deprimida.



**Figura 4.** Extracción alcalina, localidad Tres de Octubre (884 msnm) (Muestra 3)

### CONCLUSIONES

- La aplicación del método alcalino de extracción de alcaloides ha permitido obtener una mayor cantidad de alcaloides con la depresión de tetracíclicos.
- La corteza presenta altas concentraciones de alcaloides tetracíclicos en relación a la presencia de pentacíclicos.
- Existen diferencias significativas en el contenido de alcaloides de corteza de diferentes localidades estudiadas.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Domínguez, G. Uña de gato y producción sostenible. Ed. Publifor, UNALM – Facultad de Ciencias Forestales Lima, Perú. 1997. 138 p
2. Kani, I., Faik, Y., Aytog, A. Los bosques la diversidad biológica y el mantenimiento del patrimonio natural. En: Diversidad Biológica Forestal y el Mantenimiento del Patrimonio Natural. Actas del XI Congreso Forestal Mundial. 1997. Vol. 2.
3. Domínguez, G. y Castillo, A. Crecimiento de un clon de *uncaria tomentosa* (willd.) dc. en cuatro condiciones de hábitat. Aceptado para publicación en: Ecología Aplicada vol 6 dic.07, Departamento de Biología – UNALM. Lima-Perú. 2007.
4. Quinteros, B. Distribución natural y determinación edafoclimática de la *Uncaria tomentosa* (Wild) D.C. y *Uncaria guianensis* (Aubl) Gmel (Uña de gato) en la cuenca del Río Aguaytía. Tesis para optar el Título de Ingeniero Forestal, Facultad de Forestales. Universidad Nacional de Ucayali. 2004. 83 p.
5. Barriga, C. Experiencias en el Plan de Manejo Forestal para la Producción Sostenible de uña de gato (*Uncaria tomentosa* (Willd)DC.. En: I Reunión Internacional del Género *Uncaria* “Uña de gato”, 16 al 18 de agosto. 2001. p. 25-36.
6. Wetzell, A. Análisis de los factores de sitio que influyen en la regeneración natural de “uña de gato” *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. y *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmel., en el bosque nacional Alexander Von Humboldt. Tesis para obtener el Título de Bióloga. Facultad de Ciencias, UNALM. Lima, Perú. 2005. 180 p.
7. Palacios, J. Plantas medicinales nativas del Perú. Serie Ciencias. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC). Lima-Perú, 1997. 292 p.
8. Laus, G. Y Keplinger, K. Separation of stereoisomeric oxindole alkaloids from *Uncaria tomentosa* by high performance liquid chromatography. *Journal of chromatography*. A. 1994. 662, p. 243-249.
9. Laus, G., Brossner, D. Y Keplinger, K. Alkaloids of Peruvian *Uncaria tomentosa*. *Phytochemistry*. 1997. Vol 45. N° 4. p 855-860.
10. IIAP. 1997. Instituto de Investigación de la Amazonía Peruana.
11. García, J. de J. Curso de capacitación “Metodología Básica para el estudio Fitoquímico de Plantas Medicinales – Técnicas analíticas”. Notas del curso. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2006. 88 p.