

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA, ALCALOIDES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE CORTEZA *CINCHONA MICRANTHA*

Mónica Guadalupe Retuerto-Figueroa^{*a}, Gaby Espinoza-Córdova^b, Jossimar Paúl Huamaní Tarazona^a, Alejandro Gómez Silvera^{a,c}, Johan Josep Romero Macavilca^d, María del Carmen Aylas Humareda^e, Rosmery Huamán-Tarrillo^a, Úrsula Villafuerte-Montes^f, Robson Miranda da Gama^g, Marcia Eugenia del Llano Archondo^h

RESUMEN

La *Cinchona micrantha*, árbol de la quina, es una planta amazónica utilizada tradicionalmente en el tratamiento de la malaria, poseen propiedades antidiarreicas y antipiréticas. El objetivo de este estudio fue de determinar los parámetros fisicoquímicos, capacidad antioxidante *in vitro* y alcaloides totales de los extractos alcohólicos de la *Cinchona micrantha*. Se prepararon extractos por maceración a partir de las cortezas secas, usando como solvente etanol al 50 %, 70 % y 96 %. Los extractos presentaron valores de densidad relativa, sólidos totales, índice de refracción, grados Brix y pH. El extracto al 70 % presentó mayor capacidad antioxidante por el método DPPH con un TEAC de $260,25 \pm 4,21$ mg de trolox/g extracto seco y un IC₅₀ de $0,013 \pm 0,00$, así como, mayor contenido de alcaloides expresados en porcentaje de quinina y cinchonina. Se concluye que los parámetros fisicoquímicos sirven como herramienta de control de calidad para tener especificaciones técnicas de los extractos alcohólicos de la corteza de *Cinchona micrantha* provenientes de la Unidad San Juan Bautista de Cañaris, región de Lambayeque y que el extracto al 70 % presenta mayor potencial antioxidante y contenido de alcaloides. Finalmente, el trabajo de investigación favorece la actualización de bibliografía científica.

Palabras clave: actividad antioxidante, parámetros fisicoquímicos, DPPH, alcaloides, *Cinchona micrantha*.

^a Facultad de Farmacia y Bioquímica-Laboratorio de Farmacognosia, Grupo de Investigación Farmacognosia y Medicina Tradicional, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú. monica.retuerto@unmsm.edu.pe

^b Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), Lima, Perú.

^c Comité técnico del árbol de la quina del Colegio de Ingenieros del Perú, CIP Lima, Perú.

^d Centro de Ornitología y Biodiversidad-CORBIDI - Ecología vegetal, Lima, Perú.

^e Facultad de Ingeniería Geográfica, Ambiental y Ecoturismo, UNFV, Lima, Perú.

^f Facultad de Farmacia y Bioquímica-CIPTECAL, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú.

^g Laboratório de Produtos Naturais e Farmacêuticos. Centro Universitário FMABC - Brasil.

^h Centro Universitário FMABC, Universidade Santo Amaro, Sao Paulo, Brasil.

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION, TOTAL ALKALOIDS AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF ALCOHOLIC EXTRACTS OF BARK *CINCHONA MICRANTHA*

ABSTRACT

Cinchona micrantha, cinchona tree, is an Amazonian plant traditionally used in the treatment of malaria, possessing antidiarrheal and antipyretic properties. The objective of this study was to determine the physicochemical parameters, in vitro antioxidant capacity and total alkaloids of *Cinchona micrantha* alcoholic extracts. Extracts were prepared by maceration from the dried barks, using 50%, 70% and 96% ethanol as solvent. The extracts showed values of relative density, total solids, refractive index, Brix degrees and pH. The 70 % extract showed higher antioxidant capacity by the DPPH method with a TEAC of 260.25 ± 4.212 mg trolox/g dry extract and an IC₅₀ of 0.013 ± 0.00 , as well as a higher content of alkaloids expressed as percentage of quinine and cinchonin. It is concluded that the physicochemical parameters serve as a quality control tool to have technical specifications of the alcoholic extracts of *Cinchona micrantha* bark from the San Juan Bautista de Cañaris, Lambayeque region, and that the 70% extract has a higher antioxidant potential and alkaloid content. Finally, the research work favors the updating of scientific bibliography.

Keywords: antioxidants capacity, physicochemical parameters, DPPH, alkaloids, *Cinchona micrantha*.

INTRODUCCIÓN

El Perú se encuentra dentro de los 7 países de mayor biodiversidad, conocidos como "países megadiversos", no solo por su diversidad de ecosistemas, sino también por la diversidad de especies vegetales con valor nutricional y medicinal, de recursos genéticos y de culturas aborígenes con conocimientos resaltantes; motivo por el cual destacaremos a la *Cinchona micrantha* conocida como árbol de la quina o cascarilla, perteneciente a la familia Rubiaceae, dentro de la cual encontramos al género *Cinchona* siendo el más representativo; se distribuye en el sur de Costa Rica, Panamá, Colombia, Venezuela, Ecuador, Bolivia y los andes peruanos en altitudes de 300 a 3500 m.s.n.m. La corteza exterior e interior presentan un color marrón grisáceo y blanco respectivamente. La utilización de la corteza contiene diferentes alcaloides entre los cuales destacamos a la quinina, quinidina, dihidroquinina, cinconina y cinconidina, los cuales son responsables de la actividad antimalárica además de tener propiedades antidiarreicas y antipiréticas ^{1,2}. Cabe señalar que las cantidades de alcaloides derivados de la quinina, no solo varían entre especies vegetales, sino también entre poblaciones de diferentes regiones, esto puede deberse a las condiciones edafológicas y climáticas, sin embargo, pocas investigaciones han estudiado este comportamiento ³.

La mayoría de los compuestos bioactivos de este recurso vegetal, se encuentran en la corteza del tallo del árbol de la quina, siendo los alcaloides derivados de la quinolina los

más resaltantes, los cuales presentan propiedades antimaláricas por su alta capacidad de inhibir el desarrollo de los parásitos pertenecientes al género *Plasmodium* (agente causal) ².

En la actualidad, la bibliografía no reporta información renovada sobre el género *Cinchona* y sus diferentes especies sembradas en el territorio peruano. Por lo que existe una tendencia para investigar las propiedades beneficiosas de la *Cinchona micrantha*. En el Perú se puede ubicar de forma silvestre a la quina en las regiones de Huánuco, Amazonas, Cajamarca y Lambayeque.

Los pobladores lo consumen directamente como polvo deshidratado y tinturas ²; no obstante, ante la carencia de información científica actual que validen su utilización en nuestro país, nos planteamos los objetivos de determinar los parámetros físicoquímicos, capacidad antioxidante *in vitro* y alcaloides totales de los extractos alcohólicos de la *Cinchona micrantha* que impulsaría su cultivo y utilización para la salud humana.

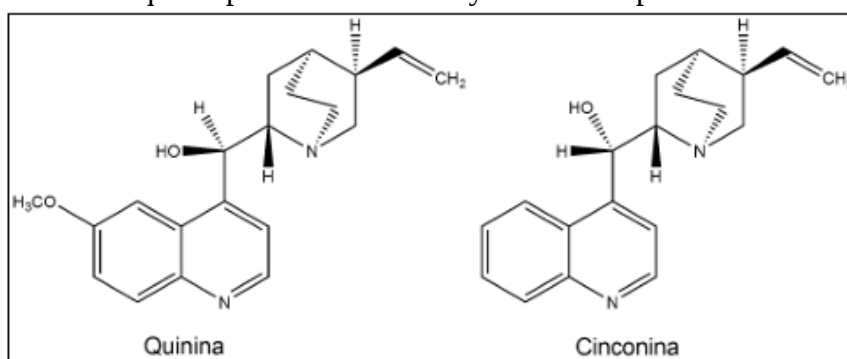


Figura 1. Alcaloides de la quina ²

PARTE EXPERIMENTAL

Material Vegetal

Se utilizó la corteza del tallo de la *Cinchona micrantha* procedente de la Unidad San Juan Bautista de Cañaris ubicada a 2750 m.s.n.m. en el distrito de Cañaris, provincia de Ferreñafe de la región de Lambayeque, el cual presenta un ecosistema del Bosque Montano. La colecta de la corteza se realizó en árboles adultos de 3 a 15 m de altura empleando un cuchillo de hueso (no machete) para evitar dañar el cambium para su cicatrización, en los meses de agosto, septiembre y octubre.

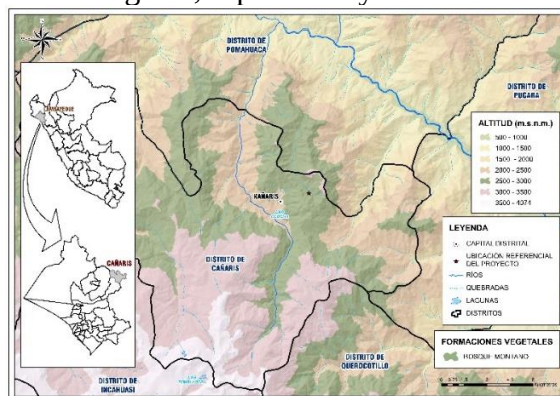


Figura 2. Ubicación geográfica de la *Cinchona micrantha*.



Figura 3. Árbol de *Cinchona micrantha* “quina”.

Preparación del extracto etanólico

La corteza obtenida fue lavada y secada por 7 días a temperatura ambiente, se procedió con la molienda para obtener un polvo seco, seguidamente se elaboraron tres extractos alcohólicos por el método de maceración a diferentes concentraciones 50%, 70% y 96%, para la cual se pesó 30 g de polvo seco de corteza finamente molido en 400 mL de solventes a 50%, 70% y 96% por 3 h en ultrasonido, finalizado el proceso se filtró empleando papel Whatman para obtener el extracto líquido, el cual se almacenó en frascos de vidrio ámbar en condiciones de refrigeración para su posterior uso ⁴.

Determinación de los parámetros fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos analizados fueron densidad relativa, sólidos totales, pH, índice de refracción y grados Brix (° BX) según los métodos oficiales de la AOAC, por triplicado ⁵.

Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante *in vitro* del extracto alcohólico de la corteza de *Cinchona micrantha*, se determinó por el método de DPPH.

Método de inhibición frente al radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidraizilo (DPPH)

Se usó el método propuesto por Brand-Williams *et al.* ⁶ ajustada a las condiciones de nuestro trabajo. El ensayo se basa en la reducción de los radicales de DPPH debido a la donación de hidrógenos de los compuestos antioxidantes de los extractos, evidenciado por el cambio de color de púrpura a amarillo. Se prepararon diluciones de los extractos alcohólicos de diferentes concentraciones 50%, 70% y 96% de la corteza de la “quina” hasta alcanzar concentraciones de 6,25 µg/mL a 1,25 µg/mL. Posteriormente se tomó 0,5 mL de los extractos y se añadió 1 mL de DPPH disuelto en etanol (0,02 mg/mL). Luego de 30 minutos en oscuridad y a temperatura ambiente se realizaron las lecturas de

absorbancias a 517 nm. Conjuntamente, se empleó como patrón de referencia trolox, la curva se preparó con concentraciones de 1,25 µg/mL a 6,25 µg/mL con un valor de R^2 igual a 0,9957. Los resultados se expresaron en capacidad antioxidante equivalente a trolox (TEAC-DPPH) y concentración inhibitoria media (IC₅₀) (µg de muestra seca/mL)^{7,8}.

Determinación de Alcaloides Totales

Se usó el método propuesto por la Farmacopea Brasileña⁹. Se pesó 1 g de la corteza molida seca, se añadió 10 mL de agua y 7 mL HCl 2 M, se llevó a baño maría por 30 min, finalizado el proceso se dejó enfriar y se agregó 25 mL de CH₂Cl₂ (cloruro de metileno), 50 mL de C₄H₁₀O (éter etílico) y 5 mL de NaOH (20% p/v). Se utilizó un agitador magnético por 30 min y se adicionó 3 g de goma tragacanto en polvo y se agitó hasta que aclare la mezcla. Seguidamente se filtró sobre papel y se hizo lavados con 20 mL de la mezcla CH₂Cl₂/C₄H₁₀O (1:2), los filtrados se evaporaron hasta sequedad y se disolvieron en 10 mL de C₂H₅OH, finalmente se evaporó 5 mL hasta sequedad y adicionó HCl 0,1 M para disolver el residuo. Luego se transfirió el contenido a una fiola (1000 mL) y se enrazó con HCl. Simultáneamente se prepararon dos soluciones estándar de quinina y cinconina con el siguiente procedimiento, 30 mg en HCl 0,1 M en una fiola 1000 mL y se homogenizó. Las absorbancias de la muestra y los estándares (quina y cinconina) fueron leídas a 316 nm y 348 nm, se utilizó la solución blanco para llevar a cero el equipo. Los resultados se expresaron en porcentaje de alcaloides del grupo quinina y cinconina⁹.

Análisis estadístico

Los parámetros físicoquímicos, capacidad antioxidante y alcaloides totales fueron realizados por triplicado. Los resultados obtenidos se expresaron como el promedio ± desviación estándar, siendo procesados por el software GraphPad Prism 8.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros físicoquímicos evaluados como control de calidad de los extractos de la corteza fueron la densidad relativa, sólidos totales, índice de refracción, grados Brix y el pH (Tabla 1). La densidad relativa de los extractos alcohólicos a diferentes concentraciones (0,816 - 0,937 g/mL) es ligeramente inferior a la densidad del agua. El pH de los tres extractos es ligeramente ácido. Estos parámetros nos sirven para tener especificaciones técnicas para elaboraciones y formulaciones con potencial terapéutico, alimenticio y cosmético¹⁰. De modo que los datos reportados favorecen el incremento de información del árbol de la quina proveniente del distrito de Cañaris – Lambayeque.

Las características organolépticas de los extractos presentaron un color rojizo marrón, olor característico y aspecto líquido. El porcentaje de rendimiento del secado de la corteza del árbol de la quina fue 33%, esto puede deberse al poco contenido de humedad presentado en la corteza de la planta.

De acuerdo al análisis ANOVA, se observa en la figura 4 y 5, que los tres extractos tienen densidades que son significativamente diferentes ($p < 0.0001$), siendo el extracto de 50% el que presenta mayor densidad. El pH del extracto del 96% es significativamente diferente y es el menos ácido que los extractos del 50% y 70%. El extracto de 96% exhibe el menor contenido de sólidos totales, mientras que los resultados Brix no muestra fuertes

diferencias significativas. Se observa una correlación directa de la densidad con respecto a los sólidos totales. Se presume que el sistema de solvente que extrae el mayor contenido de metabolitos es el sistema de 50 %.

Tabla 1. Resultados de los parámetros fisicoquímicos de los extractos alcohólicos al 50 %, 70 % y 96 % de la corteza de la *Cinchona micrantha*, “quina”.

Extracto de la corteza de la quina	DR ⁽¹⁾	ST ⁽²⁾	IR ⁽³⁾	°BX ⁽⁴⁾	pH
Extracto 50 %	0,937 ± 0,00	0,012 ± 0,00	1,365 ± 0,00	17,50 ± 0,00	4,91 ± 0,00
Extracto 70 %	0,893 ± 0,00	0,012 ± 0,00	1,365 ± 0,00	20,50 ± 0,00	5,36 ± 0,00
Extracto 96 %	0,816 ± 0,00	0,008 ± 0,00	1,365 ± 0,00	20,50 ± 0,00	5,91 ± 0,00

Valores (promedio ± DS)

1) Densidad relativa (DR): g/mL a 20,1 °C

2) Sólidos totales (ST): del extracto mg/mL

3) Índice de refracción (IR).

4) Grados Brix (°BX): extracto seco disuelto en el solvente a 20,1 °C

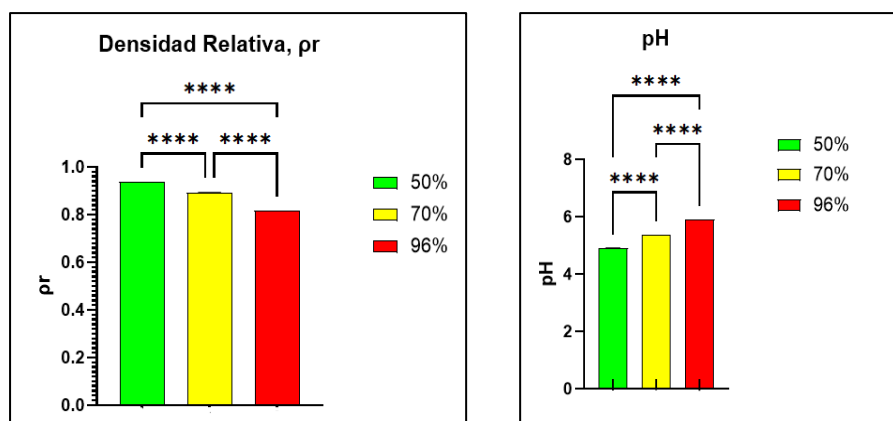


Figure 4. Diagramas de barra, ρ_r y pH, Análisis de ANOVA y t-test, llevado a cabo con el software GraphPad Prism 8 software, clave: **** $p < 0.0001$; * $0.01 < p < 0.05$, y ns = no significativo ($p > 0.05$).

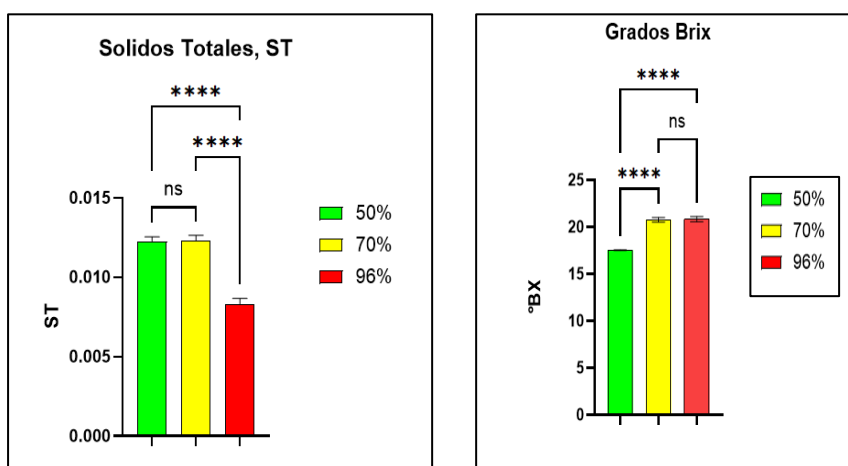


Figure 5. Diagramas de barra, ST y °BX, Análisis de ANOVA y t-test, llevado a cabo con el software GraphPad Prism 8 software, claves: **** $p < 0.0001$; * $0.01 < p < 0.05$, y ns = no significativo ($p > 0.05$).

En la tabla 2, se muestra la capacidad antioxidante de los tres extractos de la corteza a diferentes concentraciones 50 %, 70 % y 96 % mediante el método DPPH. Se determinó que el extracto al 70 % presenta mayor capacidad antioxidante expresado por el menor valor de IC_{50} ($0,013 \pm 0,00 \mu\text{g/mL}$) y mayor valor de TEAC ($260,25 \pm 4.21 \text{ mg trolox / g extracto seco}$) en comparación a los demás extractos. Se sabe que la actividad antioxidante está directamente relacionada con el contenido de compuestos fenólicos, es decir la especie *C. micrantha* estaría destacando por la presencia de estos constituyentes químicos. Actualmente no existen estudios científicos sobre la especie estudiada, pero Cuyubamba *et al.*¹¹, en sus investigaciones identifica la presencia de flavonoides en la especie *C. pubescens*, de igual manera Remuzgo *et al.*¹⁰, determina la presencia de flavonoles, catequinas y antocianinas en la planta. Si bien es cierto, la especie *C. pubescens* es diferente a la *C. micrantha*, estos pertenecen al mismo género y se podría concluirse que la presencia de estos constituyentes químicos podría estar determinada por el género *Cinchona*², sin embargo, estos, podría variar significativamente según el origen geográfico, factores externos como el clima y los diferentes métodos de extracción¹³.

Tabla 2. Resultados de la capacidad antioxidante de los extractos alcohólicos al 50 %, 70 % y 96 % de la corteza de la *Cinchona micrantha*, “quina”.

Extracto de la corteza de la quina	DPPH	
	IC_{50} ⁽¹⁾	TEAC ⁽²⁾
	(mg trolox / g extracto seco)	
Extracto 50 %	$0,016 \pm 0,000$	$200,70 \pm 0.39$
Extracto 70 %	$0,013 \pm 0,000$	$260,25 \pm 4.21$
Extracto 96 %	$0,013 \pm 0,000$	$243,67 \pm 2.31$

Valores (medio $\pm$ DS)

1) Concentración inhibitoria media: $\mu\text{g extracto / mL}$ necesario para reducir al 50 % la concentración inicial del radical DPPH.

2) Capacidad antioxidante equivalente a trolox: mg de trolox/g extracto seco.

En la tabla 3, se reporta el contenido de alcaloides en los tres extractos de la corteza a diferentes concentraciones 50 %, 70 % y 96 %, investigadores reportan contenidos de alcaloides de otras especies y partes del recurso vegetal, por ejemplo, Cuyubamba *et al.*¹¹, determina cualitativamente el contenido de alcaloides (+ + +) mediante la marcha fitoquímica e identifica especialmente la presencia de quinina en el tallo de la especie *C. pubescens* proveniente de Cuzco¹². Remuzgo *et al.*¹⁰, reporta el contenido de alcaloides como quinidina (0,0040 %), cinchonidina (0,0018 %) y quinina (0,0006 %) en las hojas de la *Cinchona pubescens*, sin embargo, no se detecta la presencia de cinchonina (cinconina); estas diferencias pueden deberse a que la parte estudiada fue la corteza y no las hojas, además de la diferencia de especies analizadas, las localidades también son un factor influyente en las condiciones ambientales, edafológicas y su adaptación agronómica¹¹. Finalmente, los datos reportados favorecen al incremento de información sobre el árbol de la quina proveniente del distrito de Cañaris, región Lambayeque.

Por otro lado, Kaufman *et al.*¹⁴, evidencia que la corteza de los árboles del género *Cinchona* contiene diversos alcaloides derivados de la quinina, especialmente quinina, quinidina, cinchonina (cinconina) y cinchonidina (cinconidina), de los cuales dos fueron identificados en nuestros estudios obteniendo valores menores al 1%, cabe mencionar que las cantidades de alcaloides derivados de la quinina, no solo varían entre especies

vegetales, sino también entre poblaciones de diferentes regiones geográficas, esto puede deberse a las condiciones edafológicas y climáticas, sin embargo, pocas investigaciones han estudiado este comportamiento ³. En ese sentido, se favorece con bibliografía actualizada una de las especies del género *Cinchona*.

Tabla 3. Resultados del porcentaje de alcaloides de los extractos alcohólicos al 50 %, 70 % y 96 % de la corteza de la *Cinchona micrantha*, “quina”.

<i>Extracto de la corteza de la quina</i>	% Quinina ⁽¹⁾	% Cinchonina (cinchonina) ⁽²⁾
Extracto 50 %	0,063 ± 0,00	0,020 ± 0,00
Extracto 70 %	0,068 ± 0,00	0,022 ± 0,00
Extracto 96 %	0,066 ± 0,00	0,017 ± 0,00

Valores (medio ± DS)

1) Porcentaje de alcaloides del grupo de quinina.

2) Porcentaje de alcaloides del grupo de cinchonina.

CONCLUSIONES

Los parámetros fisicoquímicos sirven como herramienta de control de calidad de los extractos alcohólicos de la corteza de *Cinchona micrantha* provenientes de la Unidad San Juan Bautista de Cañaris, distrito de Cañaris, provincia de Ferreñafe de la región de Lambayeque.

La mayor capacidad antioxidante se obtuvo en el extracto de la *Cinchona micrantha* “árbol de la quina” al 70 % con un TEAC de $260,24 \pm 4.21$ mg de trolox/g extracto seco y un IC₅₀ $0,013 \pm 0,00$.

La corteza de la *Cinchona micrantha* presenta baja cantidad de alcaloides (1%), lo cual permitiría su uso en el área cosmética, agronómica y alimentaria; sin embargo, se recomienda realizar ensayos toxicológicos.

En general, nuestros resultados obtenidos proporcionan evidencia sobre los parámetros fisicoquímicos, capacidad antioxidante y contenido de alcaloides de la *Cinchona micrantha* más conocido como árbol de la quina, lo que lo hace una especie vegetal potencialmente promisorio.

AGRADECIMIENTO

Al laboratorio de Farmacognosia y Medicina Tradicional – Q.F. Bertha Jurado Teixeira y al Grupo de Investigación de Farmacognosia y Medicina Tradicional - GI FARMA de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

- Conceptualización de la investigación, diseño del estudio y supervisión durante todo el proceso de redacción: Mónica Guadalupe Retuerto-Figueroa.
- Metodología, redacción y revisión de la publicación: Gaby Espinoza-Córdova.
- Tratamiento de la materia prima en el laboratorio y elaboración de los extractos alcohólicos: Jossimar Paúl Huamaní Tarazona.
- Reconocimiento, colecta y tratamiento de la materia prima desde la región de Lambayeque y apoyo en la revisión bibliográfica: Alejandro Gómez Silvera.
- Búsqueda y análisis de las metodologías para caracterización fisicoquímica de los extractos: Johan Josep Romero Macavilca.
- Elaboración del mapa de ubicación y apoyo en la revisión bibliográfica: María del Carmen Aylas Humareda.
- Recopilación de los datos experimentales de campo y de laboratorio para su análisis: Rosmery Huamán Tarrillo.
- Determinación de la actividad antioxidante de los extractos: Úrsula Villafuerte-Montes.
- Análisis estadístico de los diferentes ensayos realizados: Robson Miranda da Gama.
- Validación de la metodología de la Determinación de Alcaloides Totales e interpretación de los resultados: Marcia Eugenia del Llano Archondo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fernandez Zarate FH, Huaccha Castillo AE, Quiñones Huatangari L, Seminario Cunha A, Vaca Marquina SP. Producción del árbol de la quina (*Cinchona micrantha* R. y P.). Jaén, Cajamarca: Fondo Editorial UNJ; 2022.
2. Ferreira Júnior WS, Cruz MP, Santos LL Dos, Medeiros MFT. Use and importance of quina (*Cinchona spp.*) and ipeca (*Carapichea ipecacuanha* (Brot.) L. Andersson): Plants for medicinal use from the 16th century to the present. J Herb Med. 2012 Dec;2(4):103–12. doi:10.1016/j.hermed.2012.07.003.
3. Aymard GA. Breve reseña de los aspectos taxonómicos y nomenclaturales actuales del género *Cinchona* (Rubiaceae-Cinchoneae). Rev Acad Colomb Cienc Exact Fis Nat. 2019; 43(supl.1):234–41.
4. Espinoza Córdova G, Retuerto Figueroa MG, Vargas De La Cruz E, Huamaní Tarazona JP, Aronés Jara MR, Calixto Cotos MR, et al. Caracterización fisicoquímica y capacidad antioxidante del extracto de *Vaccinium floribundum* kunth Pushgay. Rev Soc Quím Perú. 2023 Jun 30;89(3): 182-192.
5. International Association of Official Analytical Chemist AOAC. Official Methods of Analysis II. 19th ed. Maryland: AOAC; 2012.
6. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Food Sci Technol. 1995; 28:25–30.
7. Aguilar EJ, Bonilla EP, Enciso ER. Capacidad antioxidante de los extractos obtenidos de hojas de *Senecio rufescens* DC. Rev Soc Quím Perú. 2020;86(4):374-385.

8. Vergara A, Cuba KP, Morales C, Castro O, Solís PP, Rosado JD. Obtención de extractos de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) inducidos por su efecto inhibidor de la corrosión. *Rev Soc Quím Perú*. 2018;84 (1): 119-131.
9. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. *Farmacopea Brasileña*. 5ta ed. Vol. 2. Brasilia: ANVISA; 2010.
10. Henning CP. Compuestos secundarios nitrogenados: alcaloides. In: *Productos naturales vegetales*. La Plata, Argentina: Editorial UNLP; 2013. p. 18–61.
11. Remuzgo Foronda JR, Alvarez Melo JB, Sales Dávila F, Valdivieso Arenas G. Caracterización Taxonómica y Fitoquímica de *Cinchona pubescens* y *Ladenbergia oblongifolia* en el Ámbito del Valle Alto Huallaga—Región Huánuco. *REBIOL*. 2020;40(2):242–55.
12. Condor E, de Oliveira BH, Loayza K, Reyna V. Estudio químico de los tallos de *Cinchona pubescens* Vahl. *Rev Soc Quím Perú*. 2009;75(1): 54-63.
13. Gonzalez-Orozco C. Regiones biogeográficas del género *Cinchona* L. (Rubiaceae-Cinchoneae). *Revista Novedades Colombianas*. 2021 Dec 31;16(1):135–56.
14. Kaufman TS, Rúveda EA. The quest for quinine: Those who won the battles and those who won the war. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2005 Feb 2;44(6):854–85.