



UNAP



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

TESIS

**METABOLITOS SECUNDARIOS Y ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *in vitro* DE HOJAS DE *Laportea aestuans* L. y *Calathea lutea* Schult
SOBRE ERITROCITOS PLASMÁTICOS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

**DIANA LUCERO ROBALINO PINEDO
CRYSTIAN ALEXIS TORRES CARRION**

ASESORES:

**Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, Mgr.
Ing. DORA ENITH GARCÍA DE SOTERO, Dra.**

IQUITOS, PERÚ

2021

ACTA DE SUSTENTACIÓN



Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Facultad de Farmacia y Bioquímica

"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS N°050-PCGT-FFyB-UNAP-2021/OFICIO N°468-DINV-UNAP-2020

En la ciudad de Iquitos, Distrito de Iquitos, Departamento de Loreto, por vía Zoom de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, a los 27 días del mes de agosto de 2021, a horas 20, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulado "METABOLITOS SECUNDARIOS Y ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *in vitro* DE HOJAS DE *Laportea aestuans* L. Y *Calathea lutea* Schult SOBRE ERITROCITOS PLASMÁTICOS", aprobado con Resolución Decanal N°178-2021-FFyB-UNAP, presentado por los Bachilleres: **DIANA LUCERO ROBALINO PINEDO Y CRYSTIAN ALEXIS TORRES CARRIÓN**, para optar el Título Profesional de Químico(a) Farmacéutico(a) que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°028-2021-FFyB-UNAP, está integrada por:

- | | |
|--|-------------------|
| ➤ ING. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra. | Presidente |
| ➤ Q.F. IVONNE NAVARRO DEL ÁGUILA, Mgr. | Miembro |
| ➤ Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Mgr. | Miembro |

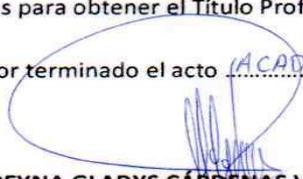
Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: SATISFACTORIAAMENTE

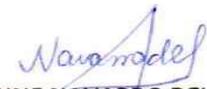
El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública y la tesis han sido APROBADAS con la calificación MUY BUENA

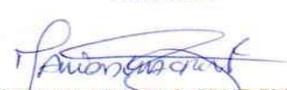
Estando los bachilleres aptos para obtener el Título Profesional de Químico(a) Farmacéutico(a).

Siendo las 21.00HR se dio por terminado el acto ACADEMICO


ING. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra.
Presidente


Q.F. IVONNE NAVARRO DEL ÁGUILA, Mgr.
Miembro


Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Mgr.
Miembro


Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, Mgr.
Asesor


ING. DORA ENITH GARCÍA DE SOTERO, Dra.
Asesora

Carretera Zungarococha – Nina Rumi
Correo electrónico: farmacia
San Juan – Loreto – Perú. Celular N°942917936
www.unapiquitos.edu.perú

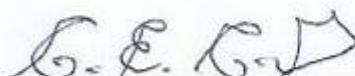
UNIVERSIDAD
LICENCIADA
RESOLUCIÓN N°012-2019-SUNEDU/CD

Lima, 1 de febrero de 2019

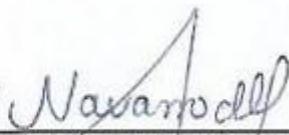
JURADO Y ASESORES



Ing. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra.
CIP N° 28912
Presidenta



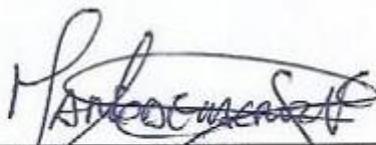
Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Mgr.
CQPF N° 05274
Miembro



Q.F. IVONNE NAVARRO DEL AGUILA, Mgr.
CQFP N° 11601
Miembro



Ing. DORA ENITH GARCÍA DE SOTERO, Dra.
CIP N° 21090
Asesora



Q.F. Mario Javier De la Cruz Flores, Mgr.
CQFP N° 13374
Asesor

DEDICATORIA

A mis padres, **Luis** Torres Acho por ser ejemplo de lucha, sacrificio y perseverancia, a mi madre **Rosa** Carrion de Torres que siempre veló por mi bienestar y estuvo presente en cada momento que la necesité, por haber confiado en mí y darme todas las facilidades de poder seguir estudiando.

A mi hermano mayor **Luis**, quien fue mi apoyo en todos los aspectos y es mi modelo a seguir en lo profesional y como ser humano.

A mi novia **Débora Mabel** por estar siempre presente y ser la que siempre creyó en mí y ser mi apoyo incondicional.

A mis hermanas **Rocío, Liz, Pryscila** por ser parte de mi día a día.

Crystian Alexis

A mi madre **Silvia**, pues gracias a sus enseñanzas y la confianza depositada en mi persona, pude cumplir mi meta de ser profesional, siendo mi motivación para salir adelante y alcanzar todo lo que me propongo.

Diana Lucero

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a Dios, por bendecirnos y protegernos durante nuestra vida, a la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana por darnos la oportunidad de realizarnos y acogernos como alma mater.

A nuestros asesores, por apoyarnos en este proyecto de tesis y brindarnos todos sus conocimientos y así poder sacar adelante esta investigación.

A Dios, por darnos la vida y permitirnos cumplir con nuestras metas y darnos la fortaleza necesaria y sabiduría para seguir adelante; asimismo a los docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, por habernos impartido sus conocimientos y confianza durante nuestra formación profesional.

A nuestros asesores Ing. Dora Enith García de Sotero, Dra. y Q.F. Mario Javier De la Cruz Flores, Mgr. por su apoyo total y tiempo dedicado a cada uno de nosotros para realizar esta investigación, además de haber compartido sus conocimientos y amistad.

ÍNDICE DEL CONTENIDO

	Página
PORTADA	i
ACTA DE SUSTENTACIÓN	ii
Jurado y Asesores	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Índice del contenido	vi
Índice de tablas	vii
Índice de figuras	viii
Resumen	ix
Abstract	x
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1. Antecedentes	3
1.2. Bases teóricas	5
1.3. Definición de términos básicos	15
CAPITULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	16
2.1. Formulación de hipótesis	16
2.2. Variables y su operacionalización	16
CAPITULO III: METODOLOGÍA	18
3.1. Diseño metodológico	18
3.2. Diseño muestral	18
3.3. Procedimientos de recolección de datos	18
3.4. Procesamiento y análisis de la información	22
CAPITULO IV: RESULTADOS	23
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	34
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	35
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	36
CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN	37
ANEXOS	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Compuestos fenólicos presentes en hojas de <i>Laportea aestuans</i> L. y <i>Calathea lutea</i> Schult	23
Tabla 2. Descriptivos de estudio – compuestos fenólicos	24
Tabla 3. Contenido de alcaloides presentes en hojas por cada una de las especies vegetales	26
Tabla 4. Contenido de saponinas presentes en hojas por cada una de las especies vegetales evaluadas	26
Tabla 5. Descriptivos de estudio – porcentaje de inhibición	31
Tabla 6. Prueba de normalidad de los datos – porcentaje de inhibición	31
Tabla 7. Prueba de homogeneidad de varianzas – porcentaje de inhibición	32
Tabla 8. Análisis de varianza – porcentaje de inhibición	32
Tabla 9. Comparaciones múltiples – porcentaje de inhibición	33
Tabla 10. Cálculo de IC ₅₀ a partir de la ecuación obtenida con su respectivo R ²	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Elementos básicos del metabolismo primario y en relación con el metabolismo secundario de plantas	7
Figura 2. Origen de algunos metabolitos secundarios (alcaloides, fenilpropanoides y terpenos) en el metabolismo primario	8
Figura 3. Estructura química del fenol	9
Figura 4. Rutas de síntesis de compuestos fenólicos	10
Figura 5. Estructura química de las saponinas	11
Figura 6. Células y matriz del tejido conjuntivo implicado en la respuesta inflamatoria.	13
Figura 7. Migración de leucocitos al tejido lesionado durante la respuesta inflamatoria.	14
Figura 8. Porcentajes de protección de la membrana de glóbulos rojos por el extracto de hojas de <i>Laportea aestuans</i> L. "ishanga"	26
Figura 9. Porcentajes de protección de la membrana de glóbulos rojos por el extracto de hojas de <i>Calathea lutea</i> Schult "bijao"	27
Figura 10. Porcentajes de protección de la membrana de glóbulos rojos por la hidrocortisona como fármaco de referencia	28
Figura 11. Porcentajes de protección de la membrana de glóbulos rojos entre los grupos de estudio por cada concentración evaluada	29

RESUMEN

Se evaluó metabolitos secundarios y actividad antiinflamatoria *in vitro* de hojas de *Laportea aestuans* L. y *Calathea lutea* Schult sobre eritrocitos plasmáticos. Cuantificación de compuestos fenólicos por técnicas espectrofotométricas UV/vis; análisis de alcaloides en extracción soxhlet y análisis de saponinas por adición del reactivo de Lieberman-Burchard. Para actividad antiinflamatoria (AAI), se utilizaron sangre humana a concentraciones de 10, 100, 1000 y 4000 ug/mL de diferentes extractos, usando solución isosalina como medio de dilución y fármaco de referencia hidrocortisona. Para compuestos fenólicos *L. aestuans* L. y *C. lutea* Schult.; esta última obtuvo resultados mayores con 15105,058 mg/100g para fenoles totales, flavonoides 18,735 mg/100g, antocianinas 1,809 mg/100g y catequinas 0,003 mg/100g la misma que fue igual para *L. aestuans* L. En alcaloides, *L. aestuans* L. con 27,94 mg/100g; mientras que *C. lutea* Schult obtuvo 31,82 mg/100g. Para saponinas, *C. lutea* Schult., *L. aestuans* L. presentó mayor cantidad con 493,257 mg/100g. En AAI, se concluye que *C. lutea* Schult para 10, 100, 1000 y 4000 ug/mL obtuvo 19,91%; 29,44%, 37,23% y 41,13%; *L. aestuans* L. presentó 15,05%; 22,33%, 39,81% y 43,69% de inhibición. Hidrocortisona presentó 28,64%; 33,98%, 50,97% y 79,13% de inhibición de protección de la membrana de glóbulos rojos. *L. aestuans* L. obtuvo $IC_{50}= 11914,42$ ug, lo que indica que a esta concentración produce inhibición en cuanto a protección de la membrana de glóbulos rojos; mientras que *C. lutea* Schult obtuvo un $IC_{50}= 41084,92$ ug. Hidrocortisona obtuvo menor $IC_{50}=316,15$ ug lo que demuestra que es el de mejor actividad antiinflamatoria.

Palabras clave: metabolitos secundarios, eritrocitos, antiinflamatorios.

ABSTRACT

Secondary metabolites and in vitro anti-inflammatory activity of *Laportea aestuans* L. and *Calathea lutea* Schult leaves were evaluated on plasma erythrocytes. Quantification of phenolic compounds by UV / vis spectrophotometric techniques; analysis of alkaloids in soxhlet extraction and analysis of saponins by addition of the Lieberman-Burchard reagent. For anti-inflammatory activity (AAI), human blood was used at concentrations of 10, 100, 1000 and 4000 ug / mL of different extracts, using isosaline solution as dilution medium and hydrocortisone reference drug. For phenolic compounds *L. aestuans* L. and *C. lutea* Schult .; the latter obtained higher results with 15 105.058 mg / 100g for total phenols, flavonoids 18.735 mg / 100g, anthocyanins 1.809 mg / 100g and catechins 0.003 mg / 100g the same that was the same for *L. aestuans* L. In alkaloids, *L. aestuans* L. with 27.94 mg / 100g; while *C. lutea* Schult obtained 31.82 mg / 100g. For saponins, *C. lutea* Schult., *L. aestuans* L. presented the highest amount with 493,257 mg / 100g. In AAI, it is concluded that *C. lutea* Schult for 10, 100, 1000 and 4000 ug / mL obtained 19.91%; 29.44%, 37.23% and 41.13%; *L. aestuans* L. presented 15.05%; 22.33%, 39.81% and 43.69% inhibition. Hydrocortisone presented 28.64%; 33.98%, 50.97% and 79.13% inhibition of red blood cell membrane protection. *L. aestuans* L. obtained $IC_{50} = 11914.42$ ug, which indicates that at this concentration it produces inhibition in terms of protection of the red blood cell membrane; while *C. lutea* Schult obtained an $IC_{50} = 41084.92$ ug. Hydrocortisone obtained a lower $IC_{50} = 316.15$ ug, which shows that it is the one with the best anti-inflammatory activity.

Keywords: secondary metabolites, erythrocytes, anti-inflammatory.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe una variedad de medicamentos dirigidos a controlar la respuesta inflamatoria; sin embargo, su espectro de acción va desde una baja efectividad hasta una potente acción que involucra la aparición de efectos adversos (1).

Esta situación y el alto costo de algunas de estas drogas, hacen necesario continuar la búsqueda de nuevos principios activos que puedan ser utilizados en la elaboración de nuevos medicamentos más económicos, efectivos y que no causen los efectos adversos de las drogas que están actualmente en el mercado.

En ese sentido, las plantas medicinales son fuente de sustancias específicas que interfieren con complejos enzimáticos, cuya sobreestimulación o sobreexpresión hace que se modifiquen los procesos enzimáticos relacionados con diversas patologías de la piel, como es el caso de la 5-lipoxigenasa (5-LOX), la ciclooxigenasa (COX) o el óxido nítrico sintasa (NOS) (1).

El conocimiento de los metabolitos secundarios presentes en las plantas que son consideradas medicinales, pero cultivadas en regiones geográficamente con condiciones ambientales distintas, es muy importante ya que nos permitirá comparar los grupos fitoquímicos presentes y las actividades antiinflamatorias de sus extractos, para de esta manera validarlo de forma científica. Finalmente, los productos naturales son de gran potencial farmacológico debido a su amplia diversidad estructural y su excelente adaptabilidad a estructuras biológicamente activas (2).

Debido al interés de las plantas medicinales como fuente de sustancias activas frente a procesos antiinflamatorios, la presente investigación se centra en la búsqueda de nuevas alternativas farmacológicas procedentes de las diferentes especies vegetales materia de estudio: *L. aestuans* L. "ishanga colorada" y *C. lutea* Schult "bijao".

Es de vital importancia reconocer que los bosques tropicales constituyen una fuente importante de compuestos naturales con propiedades antiinflamatorias

(triterpenos, antocianinas, cumarinas, lignanos, polifenoles, etc). Estos compuestos poseen grupos funcionales que inhiben la activación de linfocitos T, la producción de interleucinas y la producción de especies reactivas de oxígeno (3).

En ese sentido, la amazonia peruana presenta una gran cantidad de especies vegetales; sin embargo, aún se tiene insuficiente conocimiento en el uso de las mismas para diferentes dolencias, siendo evidente el manejo del potencial farmacológico de la flora de la región tropical y la importancia de su conservación, facilitando así la obtención de nuevos compuestos inmunomoduladores con mínimos efectos adversos.

El objetivo del presente estudio de investigación fue determinar los metabolitos secundarios y la actividad antiinflamatoria *in vitro* sobre eritrocitos plasmáticos de hojas *L. aestuans* L. y *C. lutea* Schult; la misma que aportará información sobre compuestos naturales que podrían representar una alternativa farmacológica para el tratamiento de desórdenes inmunológicos, dando realce al valor ecológico de la diversidad biológica de nuestra región Loreto.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

Álvarez, et al. (2017) en su trabajo “Plantas medicinales con propiedades frías y calientes en la cultura Zoque de Ayapa, Tabasco, México”, empleadas para el tratamiento de enfermedades. Recopilaron el conocimiento tradicional de los zoques (etnia mexicana) de Ayapa sobre las plantas medicinales presentes en sus solares y el uso de las propiedades curativas de las mismas, así como sus cualidades frías o calientes; proporcionando así una primera referencia sobre etnomedicina y su importancia terapéutica en esta localidad, destacando las hojas de *Calathea lutea* (Aubl.) E. Mey. ex Schult, quienes son utilizadas en la inflamación después del parto (4).

Oloyede (2016) en su investigación “Toxicidad, actividad antimicrobiana y antioxidante del aceite esencial de *Laportea aestuans* (Gaud)”. Aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación y analizados por GC y GC / MS. En sus resultados, los componentes principales fueron: salicilato de metilo (54,50%), fencol (10,59%), 1,2-ciclohexanodiona dioxima (9,40%), 1,4-octadieno (8,86%) y linalol (3,26%). Para toxicidad, la prueba de letalidad del camarón en salmuera mostró un valor de $CL_{50} = 367,1805 \text{ ug/mL}$, siendo considerado como tóxico; sin embargo, estos aceites esenciales mostraron apreciables propiedades antimicrobianas contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans*, *Stolon rhizopus*, *Aspergillus niger* y *Penicillium nonatum* a 200 mg/ml en comparación con los estándares de gentamicina para bacterias y tioconazol para hongos. Sin embargo, el aceite fue muy activo contra los hongos *R. stolon* y *A. niger* en concentraciones de 25-200 mg/ml, asimismo, mostró una antioxidante actividad como eliminador de radicales libres. Concluyó que a 0,1 y 0,2 mg/ml, el porcentaje de inhibición del aceite esencial fueron de 84,46% y 86,87% respectivamente; además de presentar mayor porcentaje de inhibición en el a-tocoferol (15,4% y 12,4%) (5).

Oloyede, et al. (2013) en su trabajo “Chrysen-2-ol derivative from west indian wood nettle *Laportea aestuans* (L.) Chew inhibits oxidation and microbial growth *in vitro*”. Aislaron y caracterizaron compuestos bioactivos en n-hexano de la fracción de *L. aestuans*, determinaron su toxicidad y su acción frente a antimicrobianos *in vitro* y actividades de barrido de radical libre. Los componentes químicos fueron obtenidos por columna de elución en gradiente, técnica cromatográfica y ultravioleta/visible (UV), infrarroja (IR) y nuclear; la actividad antioxidante del aislado se evaluó usando tres métodos: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), radical hidroxilo generado a partir de hidrógeno y el método de peróxido y tiocianato férrico. El cribado antimicrobiano mediante difusión en pocillos de agar y la toxicidad se determinó mediante la prueba de letalidad de camarones de salmuera. En sus resultados obtuvieron un rendimiento porcentual de 91,2% para el 1,2,3,4,4a,4b,5,6,6a,7,8,9,10,10a,10b,11-hexadecahydro-1,1,6a,10b-tetramethyl-7-((E)-4,7-dimethyloct-5-enyl) crisen-2-ol (AC) y un $CL_{50}=1581233000,0$ ug/mL considerándolo como no tóxico; para actividad antioxidante AC eliminó radicales libres a una concentración de 0,0625 mg/mL, obteniendo para DPPH un 64,73%, peróxido de hidrógeno un 99,22%, en tanto que a 1,0 mg/mL mostró un 65,23% de inhibición en la prueba de tiocianato férrico; asimismo, inhibió significativamente el crecimiento microbiano en comparación con gentamicina y tioconazol respectivamente. Concluyeron que la presencia del derivado de Chrysen-2-ol en *L. aestuans* no era tóxico y presenta importantes actividades antimicrobianas y antioxidantes de uso etno medicinal (6).

Aguirre, et al. (2010) en su estudio “Separación, identificación y cuantificación de taninos de *Calathea lutea* “bijao”, empleando para ello método volumétrico de Jean y método de Cain-Bohmann, En sus resultados muestran que hay gran cantidad de metabolitos polares; es decir, compuestos fenólicos y de taninos. Concluyeron que bijao presenta taninos de estructura catéquica y que estas pueden servir como astringente (7).

1.2. Bases teóricas

1.2.1 Especies en estudio

A. Identificación taxonómica de *L. aestuans* L. “ishanga colorada”

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	:	Urticales
Familia	:	Urticaceae Juss.
Género	:	<i>Laportea</i> .
Especie	:	<i>L. aestuans</i> L. (8)



Descripción botánica: Los tallos y las hojas suelen estar armados de pelos huecos o tricomas llenos de un líquido urticante que contiene ácidos orgánicos, histamina y acetilcolina; estos pelos, terminados en glándulas, son muy quebradizos y, cuando se rompen, inyectan en la piel el líquido que contienen, induciendo una sensación de ardor. La planta contiene taninos especialmente en la raíz y minerales como nitrógeno, potasio, hierro, calcio, azufre, magnesio, aluminio que se encuentran especialmente en las hojas (9).

Usos

Medicinales, Esta planta presenta muchísimas aplicaciones medicinales y era usada para rituales de curación. Entre otros se ha citado su valor como estimulante del aparato digestivo, antidiarréico y diurético.

Alimentario, Se toman los brotes tiernos y las hojas. Las propiedades urticantes desaparecen con la cocción. Se lavan, se hierven entre 10 y 15 minutos y se pueden usar para ensaladas, sopas, puré... Aporta beneficiosos elementos como el hierro o el silicio. Además, contiene una importante cantidad de proteínas y vitaminas A, C y K.

Distribución geográfica: de México a Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela, Las Antillas, Camerún, Madagascar y Tanzania.

B. Identificación taxonómica de *C. lutea* Schult “bijao”

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Liliopsida
Orden	:	Zingiberales Griseb
Familia	:	Marantaceae
Género	:	<i>Calathea</i>
Especie	:	<i>C. lutea</i> Schult (10)

Descripción botánica: plantas caulescentes, 1.6–4 m de alto. Hojas varias, basales y 1 (2) caulinares, láminas (18–) 30–150 cm de largo y (13–) 20–60 cm de ancho, ápice ampliamente redondeado a truncado, densamente ciliado-tomentosas, verdes en el haz, blanco-ceráceo pruinosas en el envés. Inflorescencias varias por brote, cilíndricas, 9–30 cm de largo y 2,5–6 cm de ancho, brácteas 7–18, espiraladas pero aparentando ser algo dísticas en el material seco, coriáceas, persistentes, erectas, subglabras con los márgenes pilosos en la superficie externa, glabras en la interna, bronceadas a café-rojizas, flores abiertas; sépalos 6-9 mm de largo, matizados de rosado; corola amarillo clara, tubo 25–29 mm de largo, lobos morado-cafés; estaminodios amarillos. Cápsulas obovoides, redondeadas, anaranjadas, vellosas en la base, sépalos persistentes; semillas verdosas.

Usos etnomédicos y modo de empleo: la Infusión de las flores es usada tópicamente para baños en niños débiles y para incrementar su capacidad de entendimiento (11). En Perú, la raíz cocida se usa en adultos para controlar las náuseas y la diarrea (12).

Química: alcohol arachidílico, apigenina, cinarosida, cosmosiina, docosan-1-ol, dotriacontan-1-ol-N hentriacontano, N-heptacosano, hexacosan-1-ol, luteolina, luteolina 7-O-beta-D-glucódo, N. nonacosano, octacosan-1-ol, N-pentacosano, tetracosan-1-ol, triacontan-1-ol (13-15).

1.2.2 Compuestos secundarios

Las reacciones químicas que tienen lugar en un organismo, constituye el metabolismo. La mayor parte del nitrógeno, carbono y de la energía concluye en moléculas comunes a todas las células, necesarias para su funcionamiento y la de los organismos. Estas son nucleótidos, aminoácidos, lípidos y azúcares, las mismas que están presentes en todas las plantas y desempeñan las mismas funciones; a estos llamamos metabolitos primarios (figura 1) (16).

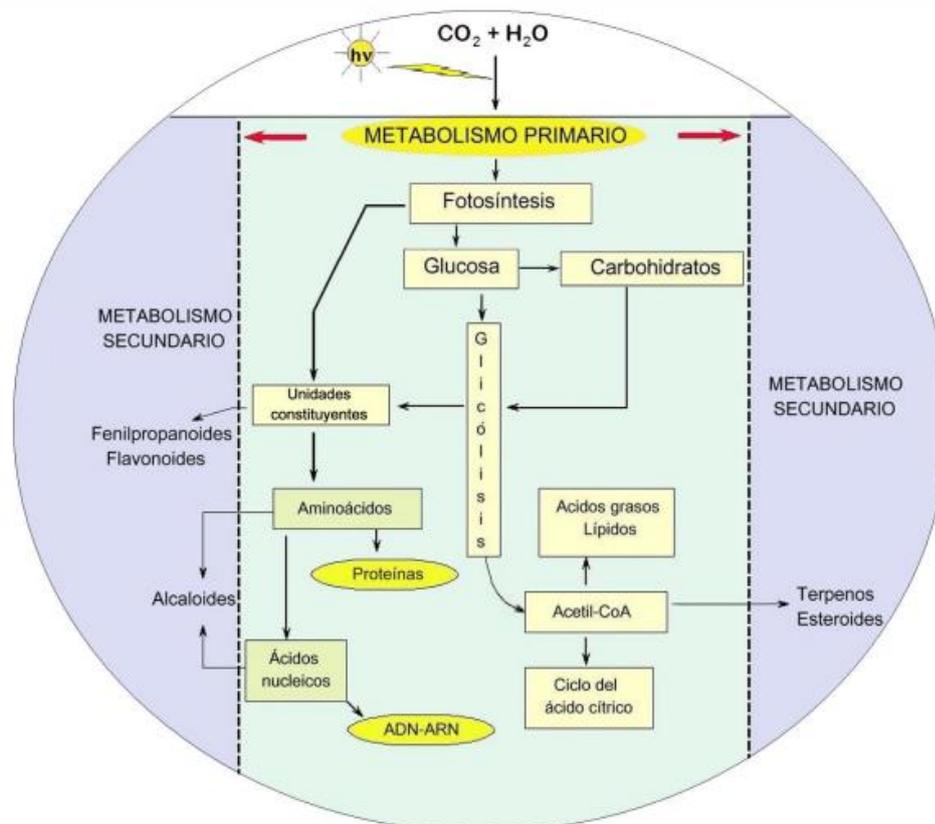


Figura 1. Elementos básicos del metabolismo primario y en relación con el metabolismo secundario de plantas

Fuente: <https://slideplayer.es/slide/17060327/>

A diferencia de otros organismos, las plantas proporcionan cierta cantidad del carbono asimilado y de la energía a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en asimilación de nutrientes, transporte de solutos, procesos fotosintéticos o síntesis de proteínas, lípidos o carbohidratos, y a estos se les denomina metabolitos secundarios (figura 2).

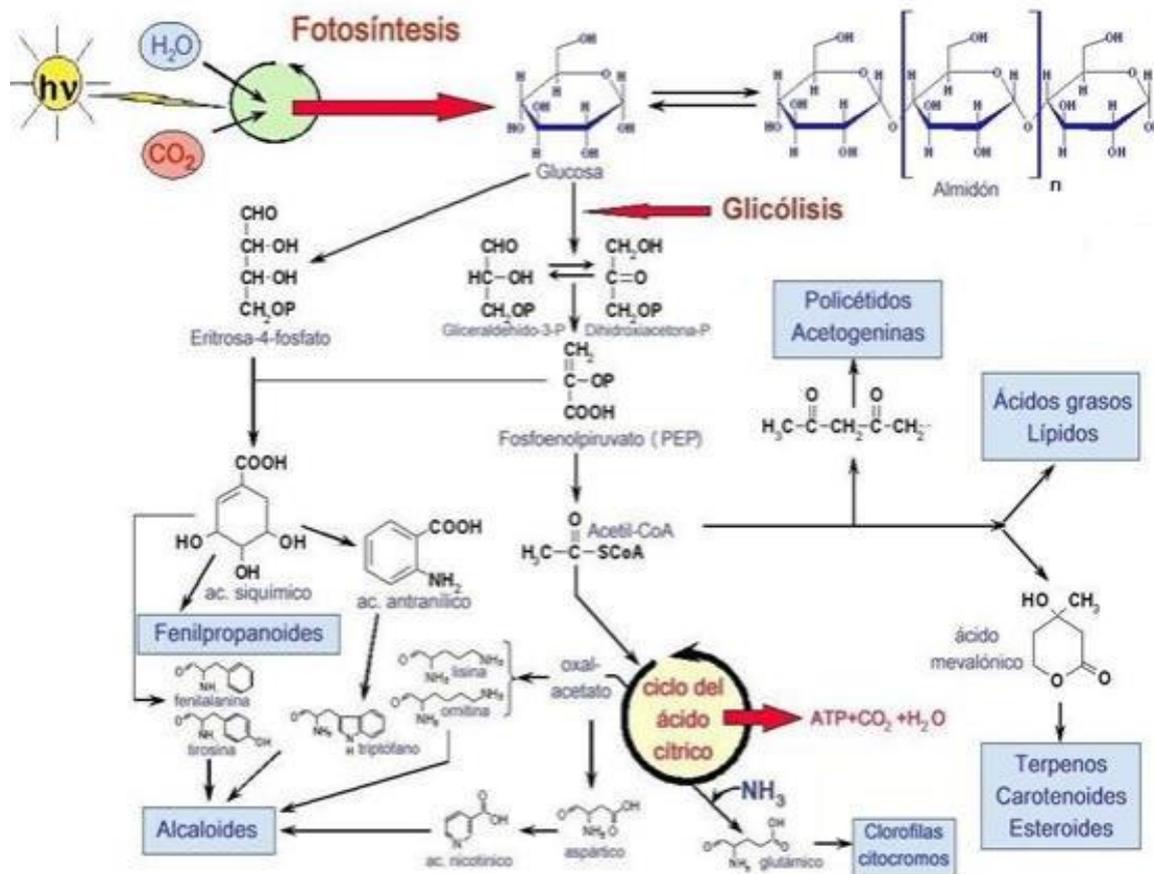


Figura 2. Origen de algunos metabolitos secundarios (alcaloides, fenilpropanoides y terpenos) en el metabolismo primario.

Fuente: <https://www.ugr.es/~quiorred/pnatu/secundario.htm>

Los metabolitos secundarios, se diferencian de los metabolitos primarios porque ciertos grupos presentan una restringida distribución en el reino vegetal, es decir, que no todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los grupos de plantas. Están en pequeñas cantidades son sintetizadas y no de manera general, conduciendo a su producción restringida a un determinado género de plantas (17,18).

Es importante destacar que también reciben la nominación de productos naturales, porque tienen un significativo e importante valor económico y medicinal, derivado éste último de su uso en la industria cosmética, alimentaria, farmacéutica. Un gran número de estos productos naturales, se utilizan

actualmente como medicamentos, gomas, resinas, potenciadores de sabor, colorantes, aromas, etc (19).

Se agrupan en cuatro clases principales:

1. Terpenos: donde destacan pigmentos, hormonas o aceites esenciales.
2. Compuestos fenólicos: Cumarinas, lignina, flavonoides y taninos.
3. Glicósidos: saponinas, glicósidos cianogénicos, glicósidos cardiacos y glucosinolatos.
4. Alcaloides.

En su mayoría, los metabolitos secundarios desempeñan funciones de protección, es decir contra la radiación ultravioleta (16), daño oxidativo, posibles daños causados por cambios bruscos de temperatura (20); asimismo contra el ataque de microorganismos (21) y de herbívoros: reptiles, insectos, mamíferos o aves (22-24).

A. Compuestos fenólicos

Las plantas sintetizan variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol. Estas reciben el nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y todas derivan del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo (Figura 3) (25).

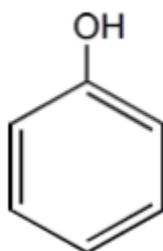


Figura 3. Estructura química del fenol

Fuente: <https://ast.wikipedia.org/wiki/Fenol>

Químicamente, son un grupo muy diverso que comprende desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como lignina y los taninos. En este grupo también se encuentran pigmentos flavonoides.

Para la biosíntesis de compuestos fenólicos, existen dos rutas básicas:

- a) Ruta del ácido siquímico (es una fuente importante de fenoles en hongos y bacterias, poco empleada en plantas superiores).
- b) Ruta del ácido malónico (es responsable de la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos de plantas. A partir de eritrosa-4-P y de ácido fosfoenolpirúvico se inicia una secuencia de reacciones que conduce a la síntesis de ácido siquímico y derivados de éste, aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina).

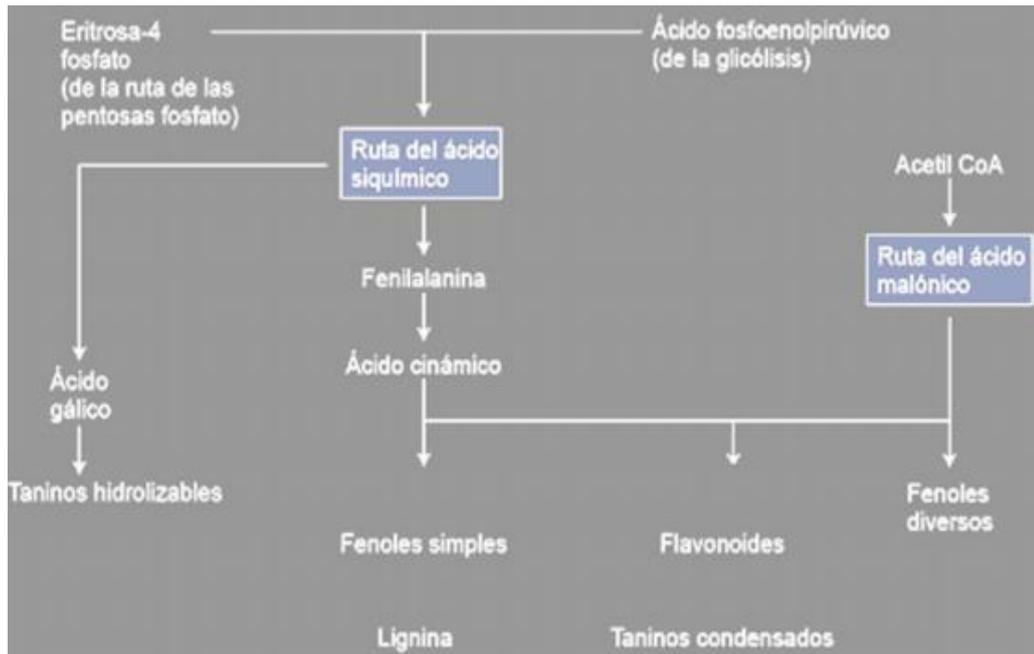


Figura 4. Rutas de síntesis de compuestos fenólicos

Fuente: <https://slideplayer.es/slide/14213572/>

Entre los compuestos fenólicos están presentes los flavonoides. El esqueleto carbonado presenta 15 carbonos ordenados en dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres carbonos. Su clasificación es en función del grado de oxidación del puente de tres carbonos, siendo las principales: flavonas, antocianinas (pigmentos), isoflavonas y flavonoles. Como parte de sus funciones está la defensa y la pigmentación (26).

Las antocianinas son flavonoides pigmentados y en su mayoría son responsables de la coloración de flores y frutos. Son importantes en el proceso de la polinización y en la dispersión de semillas. Son glicósidos con un azúcar en posición 3. Se denominan antocianidinas, cuando las antocianinas carecen de azúcar.

Compuestos secundarios nitrogenados

Este grupo es químicamente muy heterogéneo. En su mayoría son sintetizados en las plantas a partir de aminoácidos comunes; pertenecen los glicósidos cianogénicos, alcaloides, glicósidos de aceite de mostaza o los glucosinolatos y los aminoácidos no proteicos (27).

B. Glicósidos

Metabolitos vegetales importantes. Su nombre hace hincapié al enlace glicosídico formado cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. Existen tres grupos interés: saponinas, glicósidos cianogénicos y glicósidos cardíacos (25).

Las saponinas están presentes como glicósidos esteroideos, alcaloides glicósidos esteroideos o como glicósidos triterpenos. Son esteroides o triterpenoides que contienen una o más moléculas de azúcar dentro de su estructura. Se pueden presentar como agliconas (el terpeno sin el azúcar, por ejemplo), en cuyo caso se denominan sapogeninas. La adición de un grupo hidrofílico (azúcar) a un terpenoide hidrofóbico da lugar a las propiedades surfactantes o detergentes similares al jabón que presentan las saponinas (figura 5).

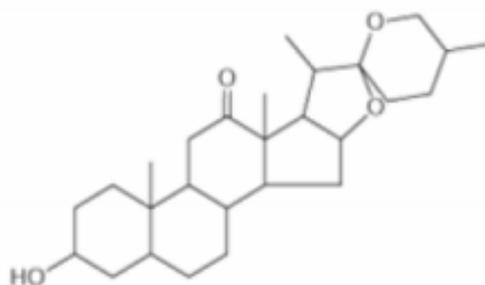


Figura 5. Estructura química de las saponinas

Fuente: <http://saponinasorganica.blogspot.com/2015/11/saponinas.html>

C. Alcaloides

La variedad en la actividad biológica y la diversidad estructural de los alcaloides y los antibióticos, hacen que estos sean considerados los más importantes entre las sustancias naturales de interés terapéutico.

Una definición exacta para los alcaloides no existe, pero es posible considerarlo como: "Compuesto orgánico de origen natural, nitrogenado (el nitrógeno se encuentra generalmente intracíclico), derivados generalmente de aminoácidos, de carácter más o menos básico, de distribución restringida, con propiedades farmacológicas importantes a dosis bajas y que responden a reacciones comunes de precipitación" (28,29).

Posee una gran familia de más de 15 000 metabolitos secundarios que tienen en común tres características: contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula, exhiben actividad biológica y son solubles en agua. En su mayoría son heterocíclicos, otros son compuestos nitrogenados alifáticos (no cíclicos) como la mescalina o la colchicina por ejemplo. Se encuentran en el 20% aproximadamente de las plantas vasculares, la mayoría dicotiledóneas herbáceas.

En humanos, los alcaloides generan respuestas fisiológicas y psicológicas la mayoría de ellas consecuencia de su interacción con neurotransmisores. A dosis altas, casi todos los alcaloides son muy tóxicos. A dosis bajas tienen un alto valor terapéutico como tranquilizantes, antitusivos, relajantes musculares, o analgésicos. Son sintetizadas de manera normal a partir de tirosina, triptófano y lisina, otros como la nicotina y compuestos relacionados derivan de la ornitina.

1.2.3 Inflamación

Es considerada una respuesta esencial en la supervivencia de los organismos multicelulares frente o hacia la agresión y consiste básicamente en una respuesta de los vasos sanguíneos y de los leucocitos. La lesión tisular que desencadena esta respuesta puede a causa de un agente químico, biológico o físico.

La respuesta inflamatoria es fundamental para inducir hacia una respuesta inmune específica que sea la más adecuada y finalmente para iniciar el proceso de reparación de los tejidos lesionados. Esta reparación inicia durante las fases de inicio de la inflamación, y esta no finaliza hasta que se haya neutralizado el estímulo lesivo. Durante la reparación, el tejido lesionado es substituido por nuevo tejido (cicatrización).

A pesar de que el proceso inflamatorio es considerado como un mecanismo de defensa ante la agresión tisular, muchas de las enfermedades como reacciones de hipersensibilidad, artritis reumatoidea, fibrosis pulmonar, la obesidad y la aterosclerosis, la respuesta inflamatoria persistente induce patología y daño tisular.

La respuesta inflamatoria tiene lugar en el tejido conectivo vascularizado (Figura 6) y esta involucra diferentes tipos de células como neutrófilos, monocitos, linfocitos, eosinófilos, mastocitos, macrófagos, plaquetas, y fibroblastos.

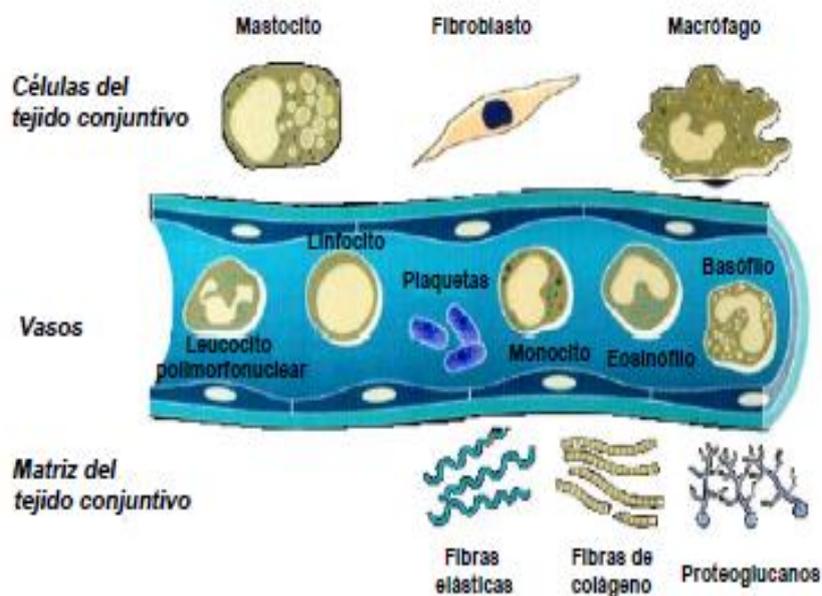


Figura 6. Células y matriz del tejido conectivo implicado en la respuesta inflamatoria.

Fuente: <https://www.slideshare.net/MONICALOPEZ158/lesion-inflamacin>

A) Tipos de inflamación

Inflamación aguda: es la respuesta inicial e inmediata a la lesión, principalmente relacionada con cambios hemodinámicos locales que llevan a manifestaciones

clínicas como calor, edema, rubor y dolor en la zona afectada. Posteriormente, existe salida de leucocitos hacia el tejido lesionado e comienza el proceso de degradación de los tejidos necróticos. Este tipo de inflamación tiene una duración que oscila entre, minutos, horas y pocos días.

Inflamación crónica: Es una inflamación de mayor duración (semanas, meses o años) mediante el cual la inflamación activa, la lesión tisular y el proceso de reparación suceden al mismo tiempo. La inflamación crónica es nociva para la salud y se constituye en el mecanismo patogénico básico de algunas enfermedades crónicas, tales como aterosclerosis, fibrosis pulmonar, artritis reumatoidea, obesidad, entre otras.

B) Fases de la inflamación

Después de un periodo corto de vasoconstricción a nivel arterial, se induce vasodilatación y aumento de flujo sanguíneo en la zona lesionada, que causa enrojecimiento y aumento de la temperatura; posteriormente el flujo sanguíneo disminuye por un aumento de la permeabilidad vascular que permite la salida de líquido de los vasos y aumento de la viscosidad sanguínea, a la que se denomina estasis (parálisis total del flujo). A medida que evoluciona la estasis se produce la migración de los leucocitos a través del endotelio vascular mediante un mecanismo denominado trans migración, el cual permite que las células inflamatorias lleguen al sitio de la lesión (30).

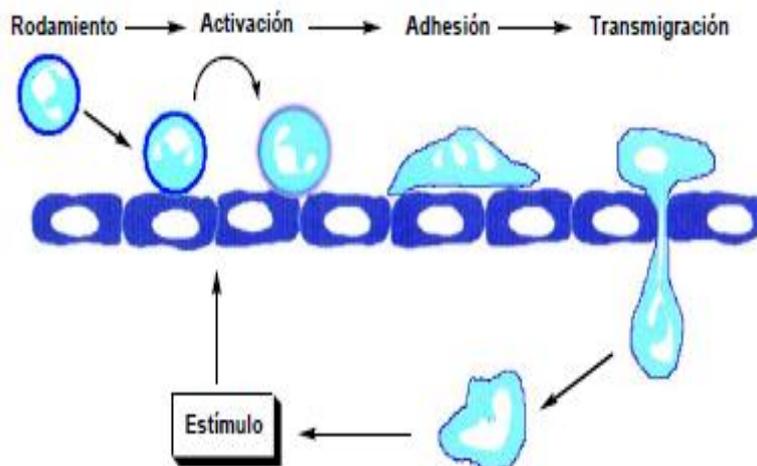


Figura 7. Migración de leucocitos al tejido lesionado durante la respuesta inflamatoria.

1.3. Definición de términos básicos

Antiinflamatorio: el término antiinflamatorio se aplica al medicamento o procedimiento médico usados para prevenir o disminuir la inflamación de los tejidos (31).

Enfermedades degenerativas: es una afección generalmente crónica durante la cual tiene lugar un proceso continuo basado en cambios degenerativos en las células, en la cual la función o la estructura de los tejidos u órganos afectados empeoran con el transcurso del tiempo (32).

Regresión lineal: en estadística la regresión lineal o ajuste lineal es un modelo matemático usado para aproximar la relación de dependencia entre una variable dependiente, las variables independientes (33).

Tratamiento antiinflamatorio: implican el uso de fármacos de tipo esteroidal y no esteroidal. Los glucocorticoides, cuya naturaleza es esteroidal (ej. Cortisol), inhiben la transcripción de genes proinflamatorios y suprimen la respuesta inmune (31).

CAPITULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1. Formulación de hipótesis

Los metabolitos secundarios presentes en extractos etanólicos de hojas de *L. aestuans* L. y *C. lutea* Schult tienen actividad antiinflamatoria *in vitro* sobre eritrocitos plasmáticos.

2.2. Variables y su operacionalización

Variable dependiente

Actividad antiinflamatoria *in vitro*: ensayo donde se puede evaluar la actividad antiinflamatoria de un tratamiento, en términos de porcentaje de inhibición antiinflamatoria e IC₅₀.

Variable independiente

Metabolitos secundarios: sustancias químicas producto del metabolismo de plantas superiores, como son polifenoles totales, flavonoides, antocianinas, catequinas, alcaloides, saponinas en hojas de *L. aestuans* L. y *C. lutea* Schult.

Operacionalización de variables

Variable dependiente	Definición operacional	Tipo por su naturaleza	indicador	Escala de medición	Medio de verificación
Actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>	Ensayo para determinar capacidad antiinflamatoria que presentan extractos de especies vegetales. Para la lectura se utilizaron cubetas de poliestireno de 1,5 mL de capacidad, donde se agregó 0,5 mL de muestra problema, con 0,2mL de Buffer fosfato (0,10 M pH=7,4) más 3,8mL de solución hiposalina (0,36%) y 0,5 mL de la suspensión de glóbulos rojos.	Cuantitativa	% de inhibición antiinflamatoria IC ₅₀	Razón	Hoja de reporte analítico
Variable independiente Metabolitos secundarios	Producto con diversos compuestos químicos, obtenido por maceración, filtrado, evaporado (solvente) y llevado hasta sequedad, la misma que es evaluada experimentalmente.	Cuantitativa	polifenoles totales, flavonoides, antocianinas, catequinas, alcaloides, saponinas.	Razón	Hoja de reporte analítico

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1. Diseño metodológico

El estudio de enfoque cuantitativo fue de tipo analítico, porque planteó y puso a prueba una hipótesis. El diseño fue experimental, con intervención del investigador se controló deliberadamente las variables para delimitar relaciones entre ellas y el grupo control.

3.2. Diseño muestral

La población del presente estudio, estuvo constituida por hojas de *L. aestuans* L. y *C. lutea* Schult., procedentes del centro poblado de Nina Rumi – Río Nanay (3°50'22"S, 73°22'41"W) y de la comunidad de Quistococha (3°49'13"S, 73°19'42"O). . La actividad antiinflamatoria *in vitro* se realizó a partir de la obtención del extracto etanólico de hojas de *L. aestuans* L. y *C. lutea* Schult. Los criterios de inclusión fueron hojas enteras, frescas y grandes, sin contaminantes (hongos u otros).

3.3. Procedimientos de recolección de datos

A. Obtención del material botánico

Colecta de especies vegetales: utilizando tijeras podadoras, se cortó hojas de las especies vegetales a ser estudiadas. Se depositó las muestras en sobres de manila debidamente rotulados, en donde se mantuvieron hasta su llegada al laboratorio.

Preparación y limpieza de muestras vegetales: una vez que la muestra del material vegetal llegó al laboratorio, se limpiaron y cortaron las hojas en pequeños fragmentos. Al mismo tiempo se realizó una selección de hojas en buen estado de cada una de las especies vegetales para la elaboración de exsiccatas y su posterior identificación y certificación.

Certificación de la especie vegetal: el Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de Amazonia Peruana – UNAP certificó la especie vegetal y entregó una constancia con su respectivo código de identificación.

Secado y micropulverizado de las muestras vegetales: una vez limpia las muestras, se trasladó a un ambiente de secado con una temperatura de 40 °C por una semana. Después del secado de las muestras, se realizó la molienda, quedando las muestras en polvo de material vegetal. El pulverizado se guardó en frascos de color ámbar para su posterior uso en los diferentes ensayos.

B. Determinación de la actividad antiinflamatoria *in vitro*

Solución de glóbulos rojos humanos: se extrajo 20 mL de sangre venosa a una persona sana y no haya recibido tratamiento alguno con ningún medicamento (por lo menos 10 días antes del ensayo). De la sangre extraída, se colocó 5mL en 4 tubos de ensayo y se mezcló con igual volumen de solución de Alsever estéril (2% dextrosa, 0,8% citrato de sodio, 0,05% ácido cítrico y 0,42% cloruro de sodio en agua). Se homogenizó por inmersión. La sangre se centrifugó a 3000 rpm por 15 minutos. Concluido este proceso, se descartó el sobrenadante (suero) y la fibrina (proteína). El plasma obtenido se lavó con CNa 0,9% y se centrifugó a 3000 rpm por 15 minutos (repetir este proceso 3 veces). Con el paquete celular (plasma) se preparó una solución al 10% v/v con CNa 0,9% para obtener una solución de glóbulos rojos, y se almacenó a una temperatura de 2 – 8° C.

Preparación del tubo de experimentación: la mezcla a ensayar contuvo 0,5 mL del extracto etanólico hojas de *L. aestuans* L. y *C. lutea* Schult a diferentes concentraciones en varios tubos (por ejemplo: 10; 100; 1000 y 4000 ug/mL), con 0,2mL de Buffer fosfato (0,15 M pH=7,4), 3,8mL de solución hiposalina (0,36%) y 0,5 mL de la suspensión de glóbulos rojos. Se utilizó hidrocortisona como fármaco de referencia 250 ug/mL en la evaluación de actividad. A otro tubo se agregó 4,3ml de solución hiposalina, con 0,2 mL de Buffer fosfato (0,15M pH=7,4) y 0,5 mL de la suspensión de glóbulos rojos, el cual fue el estándar. A otro tubo se le agregó 4mL de solución isosalina, 0,5 mL del extracto etanólico de hojas de *L. aestuans* L. y *C. lutea* Schult y 0,5 mL de la suspensión de glóbulos

rojos, el cual fue el blanco. A otro tubo se le agregó 4mL de solución isosalina, 0,5 mL de la muestra (sol. isosalina) y 0,5 mL de la suspensión de glóbulos rojos, el cual fue el blanco del estándar.

Todos los tubos se incubaron a temperatura ambiente por 10 min y fueron centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos.

La hemoglobina contenida en la solución sobrenadante fue valorada en el espectrofotómetro a 540 nm.

El indicador que se evaluó en el ensayo será el porcentaje de hemólisis, que se calculó asumiendo que la hemólisis producida por el agua destilada es 100%. El porcentaje de protección de la membrana de glóbulos rojos se calculó usando la siguiente expresión:

$$(\%Inh) = \frac{Abs\ control - Abs\ muestra}{Abs\ control} \times 100$$

C. Determinación de metabolitos secundarios

Cuantificación de compuestos fenólicos: se utilizaron las técnicas espectrofotométricas de UV/vis descritos por Valls *et al.* (34).

Preparación del extracto: se pesaron 0,5g de muestra seca y micropulverizada, se extrajeron sucesivamente con 3 volúmenes de 25 ml de etanol absoluto acidulado con un 1% de ácido fórmico. El extracto se evaporó hasta sequedad en estufa a 40 °C. El residuo seco se re disolvió en una solución de metanol al 50% acidulado con un 1% de ácido fórmico, llevado a un volumen de 10 ml. Se guardó de 2-8 °C hasta su posterior análisis.

Determinación de polifenoles totales: se realizó la medida del índice de Folin, para lo cual se trataron 40 µl de muestra (preparación del extracto) con 0,5 mL de reactivo de Folin- Ciocalteau y 2 mL de carbonato sódico al 20% (p/v) y se llevaron a 10 mL. Transcurrida media hora, se efectuó la lectura de absorbancia a 765 nm. Para establecer el calibrado, se utilizarán patrones de ácido gálico de concentraciones entre 0 - 1.000 mg/L (34).

Determinación de antocianinas y flavonoides totales: De lo obtenido de la preparación del extracto, se efectuó la determinación de antocianinas a una

longitud de onda de 535 nm y para los flavonoides se realizó la lectura a 374 nm (34).

Determinación de catequinas y proantocianidoles: se aplicó el ensayo de la vainillina, se mezclan 0,5 mL (de lo obtenido en la preparación del extracto) con 1,25 mL de vainillina en metanol 1% (p/v) y con 1,25 mL de ácido sulfúrico 25% (v/v) en metanol. El blanco se preparó simultáneamente del mismo modo, pero sustituyendo la solución de vainillina por metanol. Se efectuó la lectura de absorbancia a 510 nm pasados 15 minutos. Se determinaron mediante la ecuación de la curva de calibración estándar $Y = 0,04651X + 0,03283$ y coeficiente de determinación (R^2) de 0,9964. Para cada lectura se usó como control metanol grado analítico (34).

Análisis de alcaloides: 5 g de muestra micropulverizada se extrajeron con metanol durante 24 h en una extracción continua (soxhlet) aparato. El extracto se filtró y se evaporó el metanol en un evaporador rotatorio al vacío a una temperatura de 45 °C a sequedad. Una parte de este residuo se disolvió en HCl 2 N y después se filtró. Un mL de esta solución se transfirió a un embudo de separación y se lavó con 10 mL de cloroformo (3 veces). El pH de esta solución se ajustó de neutro a básico con 0,1N NaOH. A continuación, se añadió 5 mL de solución de verde bromocresol (BCG) y 5 mL de tampón fosfato a esta solución. La mezcla se agitó y el complejo formado se extrajo con 1, 2, 3, y 4 mL de cloroformo por agitación vigorosa. Los extractos se recogieron en un matraz aforado de 10 mL y se diluyeron a volumen con cloroformo. La absorbancia del complejo en cloroformo se midió a 470 nm (35).

Análisis de saponinas: se hizo la adición del reactivo de Lieberman-Burchard (LB) para formar productos coloridos al reaccionar con saponinas. El reactivo LB consiste en una mezcla al 16,7 % de Anhídrido acético en Ácido sulfúrico concentrado. Inicialmente se elaboró una curva de calibración absorbancia vs. concentración utilizando un estándar. Para esta curva se prepararon soluciones a las siguientes concentraciones: 0,00; 0,05; 0,1; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30; 0,35 mg/mL, de cada concentración se prepararon 2 mL, a los cuales se adicionaron 7 mL del reactivo de LB, se agitó 20 s con un vortex y se dejó en reposo 30 min. Finalmente se determinó la longitud de onda de la máxima absorción (λ_{max})

para realizar las lecturas posteriores en el espectrofotómetro, se realizó un barrido con el estándar. (La λ max, de saponinas de quinua es de 528 nm) y a esta longitud de onda se realizaron las mediciones para la curva de calibración y posteriormente para las muestras seleccionadas. A partir de la curva de calibración se pudo cuantificar el porcentaje de saponinas presentes en cada muestra evaluada (31).

3.4. Procesamiento y análisis de la información

Los datos fueron agrupados y presentados en tablas; se expresaron en valores medios \pm desviación estándar. Para determinar las diferencias entre los diferentes tratamientos se realizaron los respectivos análisis de varianza a los parámetros evaluados de los extractos vegetales.

3.5. Aspectos éticos

Se tomó en cuenta las normas éticas del Instituto Nacional de Salud, reconociendo que las decisiones relativas a las cuestiones éticas relacionadas con la medicina, la ciencia de la vida y las tecnologías conexas pueden tener repercusiones en los individuos, familias, grupos o comunidades y en la especie humana en su conjunto.

CAPITULO IV: RESULTADOS

4.1 Metabolitos secundarios

Tabla 1. Compuestos fenólicos presentes en hojas de *L. aestuans* L. y *C. lutea* Schult

Especies en estudio	Fenoles Totales mg/100g	Flavonoides mg/100g	Antocianinas mg/100g	Catequinas mg/100g
<i>L. aestuans</i> L.	2433,435	11,009	0,954	0,003
<i>C. lutea</i> Schult	15105,058	18,735	1,809	0,003

En la tabla 1 se muestra el promedio de todos los valores obtenidos de compuestos fenólicos presentes en hojas de *L. aestuans* L. y *C. lutea* Schult.; siendo esta última quien obtuvo resultados mayores con 15105,058 mg/100g para fenoles totales. Para flavonoides con 18,735 mg/100g. Antocianinas 1,809 mg/100g y para catequinas un valor de 0,003 mg/100g la misma que fue igual para *L. aestuans* L.

Tabla 2. Descriptivos de estudio – compuestos fenólicos

Grupos de estudio	N	Media	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
				Límite inferior	Límite Superior
Fenoles totales					
<i>L. aestuans</i> L.	2	2433,435	69,789	1806,402	3060,467
<i>C. lutea</i> Schult	2	15105,058	186,106	13432,965	16777,150
Flavonoides					
<i>L. aestuans</i> L.	2	11,009	1,330	-0,941	22,960
<i>C. lutea</i> Schult	2	18,735	2,487	-3,609	41,078
Antocianinas					
<i>L. aestuans</i> L.	2	0,954	0,513	-3,658	5,566
<i>C. lutea</i> Schult	2	1,809	0,552	-3,146	6,764
Catequinas					
<i>L. aestuans</i> L.	2	0,003	0,000	0,003	0,003
<i>C. lutea</i> Schult	2	0,003	0,000	0,003	0,003

En la tabla 2, se observa todos los resultados descriptivos de los grupos de estudio, correspondientes a Fenoles totales, flavonoides, antocianinas y catequinas de las dos especies estudiadas; y en ella se observa para cada grupo los respectivos intervalos de confianza al 95%.

Tabla 3. Contenido de alcaloides presentes en hojas por cada una de las especies vegetales

Especie vegetal	Alcaloides
	mg/100g
<i>L. aestuans</i> L.	27,94
<i>C. lutea</i> Schult	31,82

En la tabla 3 se muestra todos los valores obtenidos de alcaloides presentes en hojas de *L. aestuans* L. con un 27,94 mg/100g; mientras que *C. lutea* Schult obtuvo 31,82 mg/100g respectivamente.

Tabla 4. Contenido de Saponinas presentes en hojas por cada una de las especies vegetales evaluadas

Especie vegetal	Saponinas	
	mg/ml	mg/100g
<i>L. aestuans</i> L.	4,933	493,257
<i>C. lutea</i> Schult	3,959	395,888

En la tabla 4 se muestra todos los valores obtenidos para saponinas presentes en hojas de *C. lutea* Schult. y *L. aestuans* L.,

4.2 Actividad Antiinflamatoria *in vitro*

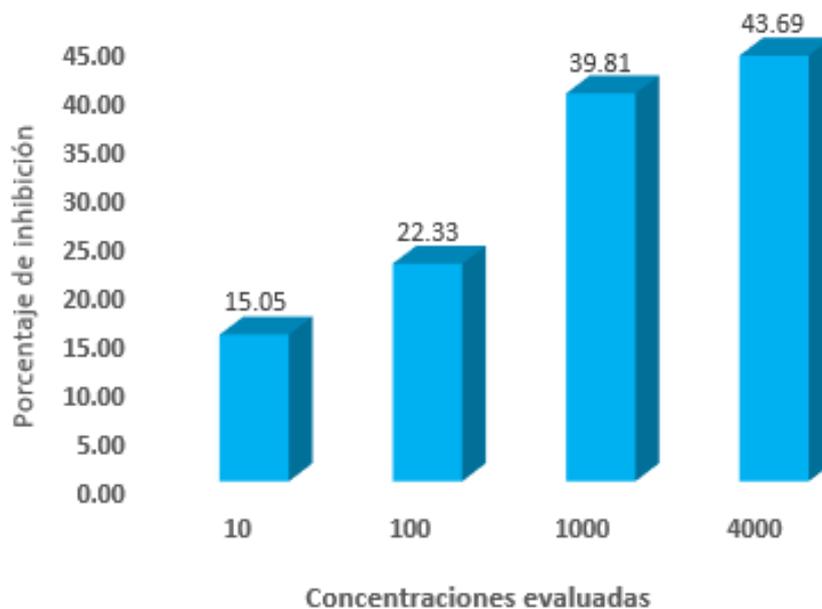


Figura 8. Porcentajes de protección de la membrana de glóbulos rojos por el extracto de hojas de *L. aestuans* L. “ishanga”

Se observa que, a mayor concentración, mayor porcentaje de protección de la membrana de glóbulos rojos por el extracto de hojas de *L. aestuans* L. “ishanga”.

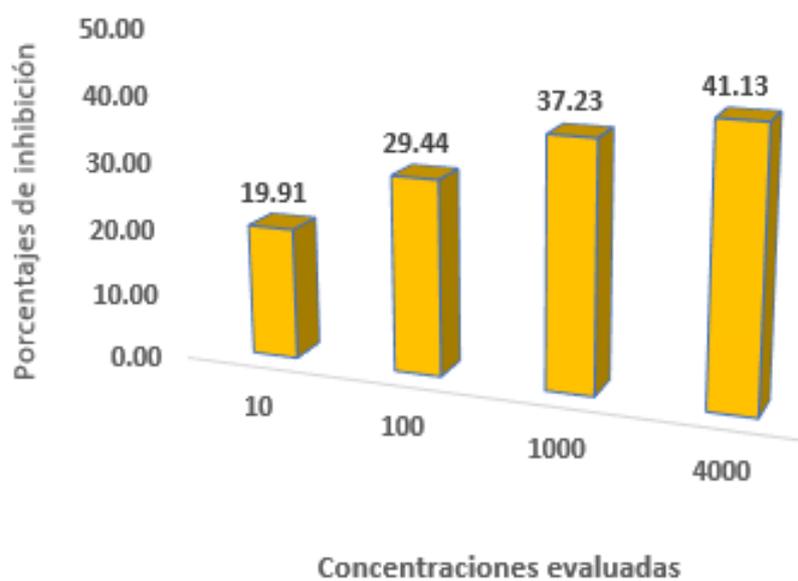


Figura 9. Porcentajes de protección de la membrana de glóbulos rojos por el extracto de hojas de *C. lutea* Schult "bijao"

Se observa que, a la mayor concentración evaluada, el extracto de hojas de *C. lutea* Schult "bijao" muestra mayor porcentaje de protección de la membrana de glóbulos rojos.

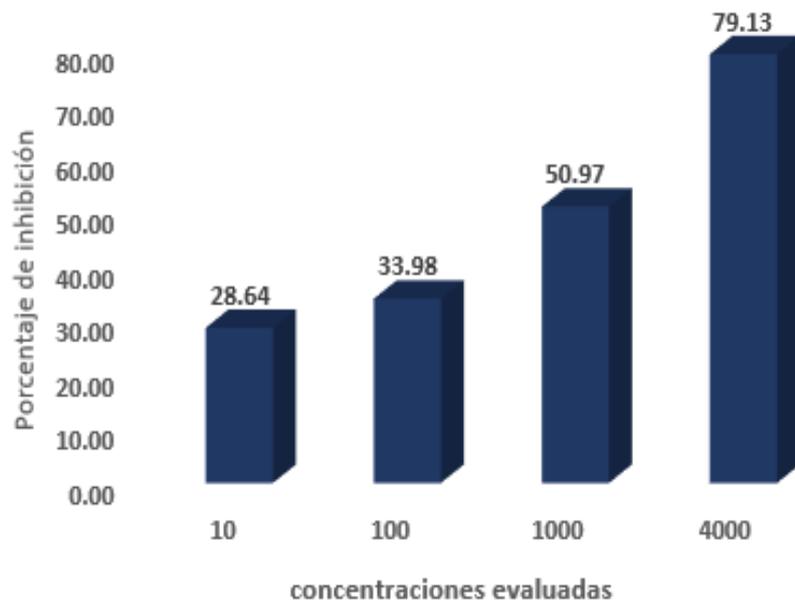


Figura 10. Porcentajes de protección de la membrana de glóbulos rojos por la hidrocortisona como fármaco de referencia

Muestra los porcentajes de protección de la membrana de glóbulos rojos por el fármaco de referencia Hidrocortisona, siendo la más representativa a la concentración de 4000 ug.

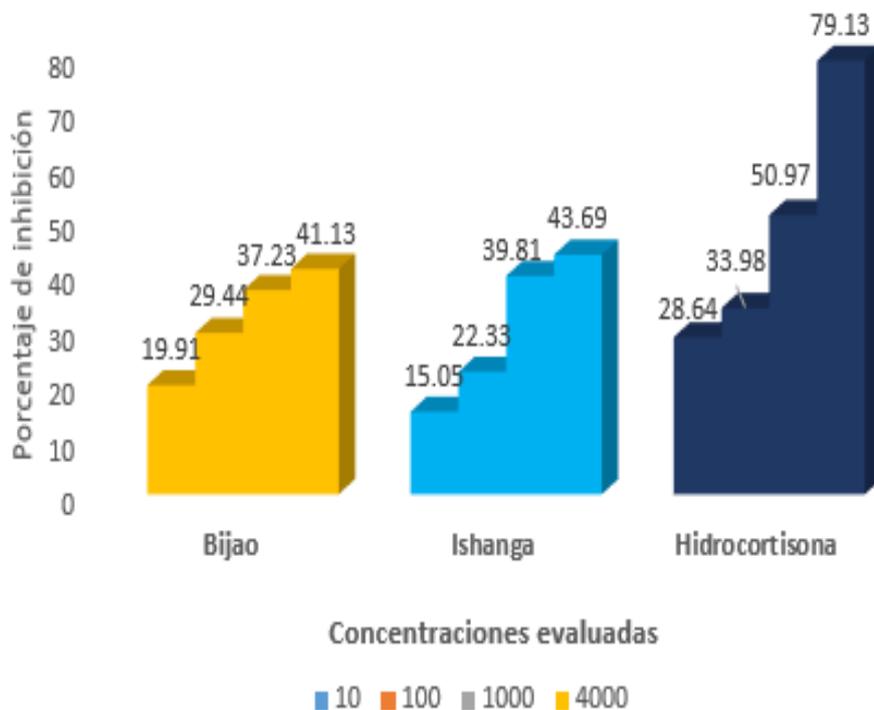


Figura 11. Porcentajes de protección de la membrana de glóbulos rojos entre los grupos de estudio por cada concentración evaluada

Se observa que las hojas *C. lutea* Schult “bijao” para las concentraciones de 10, 100, 1000 y 4000 ug/mL alcanzó valores de 19,91%; 29,44%, 37,23% y 41,13% de porcentaje de inhibición; mientras que las hojas de *L. aestuans* L. “ishanga” en todas las concentraciones evaluadas presentó 15,05%; 22,33%, 39,81% y 43,69 de porcentaje de inhibición respectivamente. Asimismo, el fármaco de referencia Hidrocortisona presentó 28,64%; 33,98%, 50,97% y 79,13%.

Tabla 5. Descriptivos de estudio – porcentaje de inhibición

Grupos de estudio	N	Media	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
<i>L. aestuans</i> L.	4	30,22	13,73	8,37	52,07	15,05	43,69
<i>C. lutea</i> Schult	4	31,93	9,37	17,02	46,84	19,91	41,13
Hidrocloruro de Hidrocortisona	4	48,18	22,72	12,02	84,34	28,64	79,13

En la tabla 5, se observa los estadísticos de estudio – porcentaje de inhibición donde la especie vegetal *L. aestuans* L. obtuvo una media de 30,22 de porcentaje de inhibición con una desviación estándar de 13,73; *C. lutea* Schult tuvo una media igual a 31,93 de porcentaje de inhibición con una desviación estándar de 9,37; mientras que el fármaco Hidrocloruro de Hidrocortisona obtuvo una media de 48,18 porcentaje de inhibición con una desviación estándar de 22,72. Asimismo, se observa para cada grupo los respectivos intervalos de confianza al 95%.

Tabla 6. Prueba de normalidad de los datos según grupo de estudio – porcentaje de inhibición

Grupo	Shapiro-wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Porcentaje de inhibición	0,903	12	0,174

En la tabla 6, aplicando el programa SPSS versión 22, se observa que todos los grupos presentan normalidad, luego de comparar el valor de la sig = 0,174(17,4%) mayor que el valor de $\alpha = 0,05$ (5%) aplicando la prueba de Shapiro-wilk. El análisis de normalidad nos permite realizar pruebas paramétricas.

Tabla 7. Prueba de homogeneidad de varianzas – porcentaje de inhibición

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,679	2	9	0,240

En la tabla 7, se muestra los resultados de la prueba para determinar si los grupos presentan varianzas homogéneas, determinándose que dichas muestras no presentan varianzas homogéneas, con un valor sig = 0,240.

Tabla 8. Análisis de varianza - porcentaje de inhibición

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	786,161	2	393,081	1,487	0,277
Dentro de grupos	2378,339	9	264,260		
Total	3164,500	11			

En la tabla 8, aplicando el programa SPSS versión 22, se determinó que sig.=0,277 siendo MAYOR que $\alpha=0,05$. Se concluye que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio según el porcentaje de inhibición, es decir, que los grupos de estudio producen diferente porcentaje de inhibición.

Tabla 9. Comparaciones múltiples – porcentaje de inhibición

T3 Dunnett

(I) Grupo de estudio	(J) Grupo de estudio	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
<i>L. aestuans</i> L.	<i>C. lutea</i> Schult	-1,708	8,313	0,995	-29,372	25,957
	Hidroclortisona	-17,960	13,276	0,504	-63,320	27,400
<i>C. lutea</i> Schult	<i>L. aestuans</i> L.	1,708	8,313	0,995	-25,957	29,372
	Hidroclortisona	-16,253	12,290	0,531	-62,322	29,817
Hidroclortisona	<i>L. aestuans</i> L.	17,960	13,276	0,504	-27,400	63,320
	<i>C. lutea</i> Schult	16,253	12,290	0,531	-29,817	62,322

*La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05(5%)

Se observa los resultados de las comparaciones múltiples entre los grupos de estudio aplicando la prueba T3 Dunnett (prueba que se aplica cuando las varianzas de los grupos no son homogéneas), encontrándose que el grupo *L. aestuans* L. produce diferente porcentaje de inhibición respecto a *C. lutea* Schult, Hidroclortisona con valores de sig = 0,995, sig = 0,504 respectivamente. Asimismo, el grupo *C. lutea* Schult produce diferente porcentaje de inhibición respecto a *L. aestuans* L. e Hidroclortisona con valores de sig = 0,995 y sig = 0,531.

Tabla 10. Cálculo de IC₅₀ a partir de la ecuación obtenida con su respectivo R²

Grupos de estudio	Ecuación	R ²	IC ₅₀
<i>L. aestuans</i> L.	$y = 3,77\ln(x) + 42,065$	0,7926	11914,42 ug
<i>C. lutea</i> Schult	$y = 2,6562\ln(x) + 24,818$	0,979	41084,92 ug
Hidrocortisona	$y = 6,1809\ln(x) + 65,773$	0,9171	316,15 ug

La Tabla 10 evidencia que *L. aestuans* L. mostró un IC₅₀= 11 914,42 ug, lo que nos indica que a esta concentración produce inhibición en cuanto a protección de la membrana de glóbulos rojos. En cambio, el fármaco de referencia Hidrocortisona obtuvo menor IC₅₀=316,15 ug lo que demuestra que es el de mejor actividad antiinflamatoria.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

Antiguamente, las saponinas se clasificaron como algunos de los glucósidos vegetales que forman espuma jabonosa cuando se mezclan y agitan con agua, por lo que se han usado de forma rutinaria como espumante, emulsificantes y detergente.

Se ha demostrado por medio de estudios anteriores, que estos surfactantes naturales contienen glucósidos de esteroides y triterpenos, que existen ampliamente en alimentos importantes, en las plantas terrestres y especialmente en las plantas medicinales. Hasta el momento, miles de saponinas homogéneas se han aislado y caracterizado (33).

Las saponinas presentan propiedad hemolítica y esta ha sido el fundamento determinante en el desarrollo de potenciales terapéuticos, ya que aminora el uso de abundantes productos naturales; sin embargo, la relación de la lisis con otras actividades biológicas como la antitumoral, adyuvante y anti-inflamatoria ha tenido buenos resultados sobre las membranas celulares (33).

Con todo lo anteriormente citado, nuestro estudio guarda relación con lo declarado por **Oloyede, et al. (2013)** quienes aislaron y caracterizaron compuestos bioactivos en n-hexano de la fracción de *L. aestuans*; concluyeron que la presencia del derivado de Chrysen-2-ol en *L. aestuans* no era tóxico y poseía importantes actividades antimicrobianas y antioxidantes para su aplicación etno medicinal.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

- La especie vegetal *C. lutea* Schult. presentó mayor contenido de compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas, catequinas y alcaloides; siendo excepcional en el contenido de saponinas, para la especie vegetal *L. aestuans* L.
- En actividad antiinflamatoria, Hidrocortisona obtuvo el mejor porcentaje de inhibición en comparación con la especie vegetal *C. lutea* Schult “bijao” y *L. aestuans* L. “ishanga”; considerándose, como el de mejor protección de la membrana de glóbulos rojos.
- *L. aestuans* L. mostró un $IC_{50}= 11\ 914,42$ ug, lo que nos indica que a esta concentración produce inhibición en cuanto a protección de la membrana de glóbulos rojos; mientras que *C. lutea* Schult obtuvo un $IC_{50}= 41084,92$ ug. En cambio, el fármaco de referencia Hidrocortisona obtuvo menor $IC_{50}=316,15$ ug lo que demuestra que es el de mejor actividad antiinflamatoria.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

- En relación a las especies vegetales evaluadas, fomentar otros estudios tales como: antihiperlipemizante, alelopática, a fin de contribuir a su aprovechamiento sostenible, dando así un valor agregado a las mismas, debido a la mínima existencia de información.
- Asimismo, es importante la elucidación estructural por técnicas espectroscópicas y espectrométricas de algunos de los principales constituyentes químicos presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *L. aestuans* L. y *C. lutea* Schult
- La investigación con otras partes de la especie vegetal, a fin de poder determinar una acción farmacológica específica a cada parte de la planta ya que se le atribuye muchos usos terapéuticos en la medicina popular.

CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Evaluación de las propiedades inmunomoduladoras y antitumorales de compuestos naturales. Fecha de acceso 27 de Febrero 2020. Disponible en:http://www.ulat.ac.pa/es/direccion_investigacion/Evaluacion%20de%20las%20Propiedades%20y%20Inmunomoduladoras%20y%20antitumorales%20de%20compuestos%20naturales%20-%20Primera%20Fase%20Estudio%20In%20Vitro.pdf
2. Nathan C. 2002. Points of control in inflammation. Nature 420: 846 - 852.
3. Evaluación de las propiedades Inmunomoduladoras y antitumorales de compuestos naturales. Fecha de acceso 27 de Diciembre 2019. Disponible en:http://www.ulat.ac.pa/es/direccion_investigacion/Evaluacion%20de%20las%20Propiedades%20y%20Inmunomoduladoras%20y%20antitumorales%20de%20compuestos%20naturales%20-%20Primera%20Fase%20Estudio%20In%20Vitro.pdf
4. Alvarez V., Caso L., Aliphath M. & Galmiche A. Plantas medicinales con propiedades frías y calientes en la cultura Zoque de Ayapa, Tabasco, México. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 16 (4): 428 - 454 [Internet] 2017 [citado 17 noviembre 2020].
5. Oloyede G. Toxicity, antimicrobial and antioxidant activities of methyl salicylate dominated essential oils of *Laportea aestuans* (Gaud). Arabian Journal of Chemistry (2016) 9:840–845.
6. Oloyede G., Oyelola M. Chrysen-2-ol derivative from west indian wood nettle *Laportea aestuans* (L.) Chew inhibits oxidation and microbial growth in vitro. EXCLI Journal [Internet]. 2013 [citado 7 noviembre 2019] 12:894-906.
7. R. Aguirre M., G. Tomás Ch., J. Huamán M., H. Galarreta D., A. Ccaccia C. Separación, identificación y cuantificación de taninos de *Calathea lutea* “bijao”. Rev. Per. Quím. Ing. Quím. [Internet] 2010 [citado 13 enero 2020] 13(1), 64-66.
8. Davidse G., Sousa M., S. Knapp & F. Chiang Cabrera. [Saururaceae a Zygothylaceae](#). Fl. Mesoamer [Internet] 2015. [citado 7 noviembre 2019] v-xvii,1-347.
9. Jorgensen P. M., M. H. Nee & S. G. Beck. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. [Intenert] 2014. [citado 10 diciembre 2019] 127(1–2): i–viii, 1–1744.

10. Kalpna R., Mital K., & Sumitra Ch. Vegetable and fruit peels as a novel source of antioxidants. *Journal of Medicinal Plants Research*, [Internet] 2011. [citado 7 noviembre 2018] 5(1), 61-71.
11. Gupta M.P., Correa M., Solís P.N., Jones A., Galdámez C., Guionneau S. Medicinal Plant Inventory of Kuna Indians: Part I. *Journal of Ethnopharmacology* [Internet] 1993. [citado 7 noviembre 2019] 40:77-109.
12. Duke, J.A. 1994. *Amazonian Ethnobotanical Dictionary*. Book. 181 p. USA.
13. Caballero-George, C., Vanderheyden, P.M.I., Solís, P.N., Pieters, I., Shahat, A.A., Gupta, M.P., Vauquelin, G., Vlietinck, A.J. 2001. Biological Screening of selected Medicinal Panamanian Plants by Radioligand-binding techniques. *Phytomedicine* 8(1): 59 -70.
14. Malterud, K.E., Wollenweber, E., Gómez, P .LD. The wax of *Calathea lutea* (Marantaceae). *Z Naturforsch Ser C* [Internet] 1979 [citado 7 noviembre 2019] 34:157.
15. Williams, C.A. & Harborne, J.B. The leaf flavonoids of the Zingiberales. *Biochem Syst Ecol* [Internet] 1977 [citado 7 noviembre 2019] 5:221.
16. Taiz, L. y Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology*. Fourth Edition. Sinauer Associates. USA.
17. Ávalos G. A. y Pérez-Urria C. E. (2009) *Metabolismo secundario de las plantas*. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. Universidad Complutense. Madrid, España. 2(3):119-145.
18. Creus J. A. (2013). *El perquè d'alguns comportaments de les plantes*. Fisiología Vegetal. Universidad autónoma de Barcelona. España.
19. Judd, W.S.; Campell, C.S.; Kellogg, E.A.; Stevens, P.F. Y Donogue, M.J. (2002). *Plant Systematics: a phylogenetic approach*. Second Edition. Sinauer. USA.
20. Singsas E. L. y Sharkey T. D. (2000) The effects of high temperatura on isoprene synthesis in oak leaves. *Plant Cell and Enviroment*. pp.: 23: 751-757.
21. Ryals J., Ukness S., Ward E. (1994). Systemic acquired-resistance. *Plant Physiology*. 104:1109-1112
22. Almaraz-Abarca N., Ávila-Reyes J. Delgado-Alvarado E., NaranjoJiménez N., Herrera-Corral J. (2007) *El Metabolismo Secundario de las Plantas, un nuevo Concepto*. *Plant Physiology*. 125:58-60.

23. Echeverri F., Cardona G., Torres F., Pelaez C., Quiñones W. y Rentería E. (1991). Ermanin: an insect deterrent flavonoid from *Pasiflora foetida* resin. *Phytochemistry*. 30:153-155.
24. Hadacek F. (2002) Secondary metabolites as plant Science. 21:273- 322.
25. Cseke, L.J.; Kirakosyan, A.; Kaufman, P.B.; Warber, S.; Duke, J.A. Y Brielman, H.L. (2006). *Natural products from Plants*. Second Edition. CRC press. Boca Raton, USA.
26. Willians, C.A. y Grayer, R.J. (2004). Anthocyanins and other flavonoids. *Natural Products Reports*. 21:539-573.
27. Kutchan T. M. (1995) Alkaloid biosynthesis: The basis for metabolic engineering of medicinal plants. *The Plant cell*. 7:1059-1070
28. Evans, W.C. (2000) *Trease and Evans –Pharmacognosy*. Editorial Saundders. Décimo quinta edición. Edinburgo.
29. Paris, M. ET M. Hurabielle (1981) *Abrégé de Matière Médicale – Pharmacognosie*. Tomo 1 y 2. Editorial Masson. París, Francia.
30. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. (2008). *Patología humana: Elsevier Health Sciences*
31. Antiinflamatorio. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiox8Kw7f7pAhWTGbkGHbChAx4QmhMwl3oECA0QAq&url=https%3A%2F%2Fes.wikipedia.org%2Fwiki%2FAntiinflamatorio&usq=AOvVaw3w3qV4Fvz8mTljfpPYNTHa>
32. Pilco Coral Mack Miuler, Sifuentes Da Silva Jorge Armando. Valor nutricional de las especies vegetales *Calathea allouia* (dale dale) y *Dioscorea trifida* (sachapapa morada). [Tesis de grado para optar el título de Licenciado en Bromatología y Nutrición humana]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (2014). Disponible en: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3686/Mack_Tesis_Titulo_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y Fecha de acceso: 23 Setiembre 2020.
33. Kalpna, R., Mital, K., & Sumitra, Ch. Vegetable and fruit peels as a novel source of antioxidants. *Journal of Medicinal Plants Research*, [Internet] 2011. [citado 14 noviembre 2019] 5(1):61-71.
34. Valls J., Lampreave M., Nadal M., Arola L. Importancia de los compuestos

- fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Revista Alimentación, Equipos y Tecnología*. (2000);19(2):119-124.
35. Shamsa F, Monsef H, Ghamooshi R, Verdian-rizi M. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. *Thai J. Pharm. Sci.* (2008); 32:17-20.
36. Wang, Y., Zhang, Y., Zhu, Z., Li, Y., Li, M. & Yu, B. Exploration of the correlation between the structure, hemolytic activity, and Cytotoxicity of Steroid Saponins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. (2007);5:2528-2532.

ANEXOS

Anexo 1: Certificación de las especies vegetales



UNAP

Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense — AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

CONSTANCIA n.º 13-2020-AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana

HACE CONSTAR:

Que, las muestras botánicas presentadas por **DIANA LUCERO ROBALINO PINEDO** y **CRYSTIAN ALEXIS TORRES CARRIÓN**, ambos bachilleres de la **Facultad de Farmacia y Bioquímica** de la **Universidad Nacional de la Amazonía Peruana** pertenece al proyecto de tesis de pre grado titulado "**Metabolitos secundarios y actividad antiinflamatoria sobre eritrocitos plasmáticos de hojas de *Laportea aestuans* L. y *Calathea lutea* Schult**" han sido **DETERMINADAS** en este Centro de Investigación y Enseñanza **Herbarium Amazonense-AMAZ** del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la **UNAP-CIRNA-UNAP** como se indica a continuación:

Nº	FAMILIA	ESPECIE
01	URTICACEAE	<i>Laportea aestuans</i> (L.) Chew
02	MARANTACEAE	<i>Calathea lutea</i> (Aubl.) Schult.

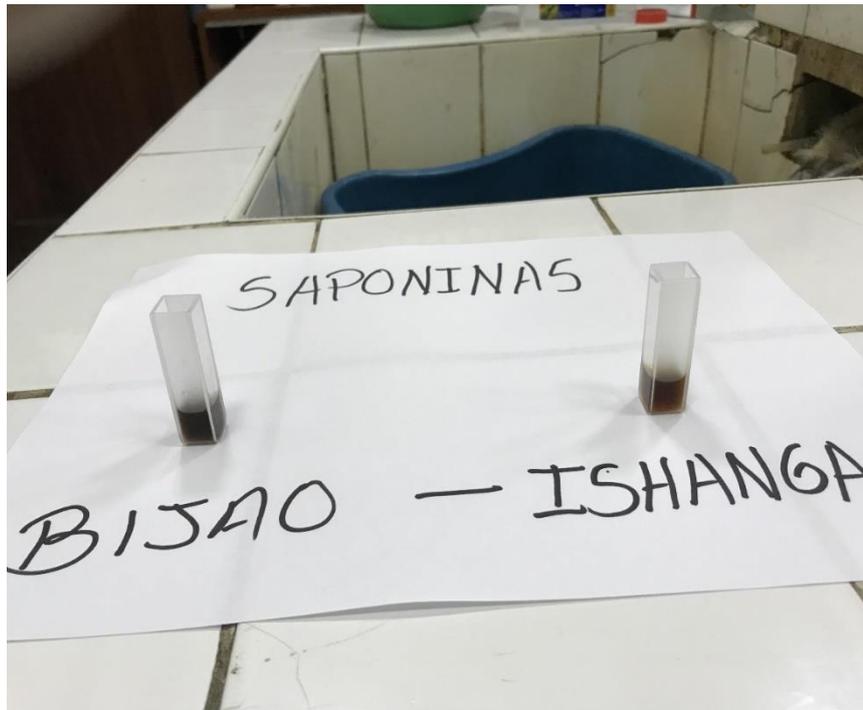
A los quince días del mes de octubre del dos mil veinte, se expide la presente constancia a los interesados para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,


Richard J. Huamaca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense



Anexo 2: Cubeta de cuarzo conteniendo saponinas, después de su lectura en espectrofotómetro



Anexo 3: Resultados de actividad antiinflamatoria

