



UNAP



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

TESIS

**DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE HOJAS DE
Justicia spicigera, Eryngium foetidum y corteza de Erythrina
fusca L. POR MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS**

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

PRESENTADO POR:

JORGE CHÁVEZ IGLESIAS

ASESORES:

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

Ing. DORA ENITH GARCÍA DE SOTERO, Dra.

IQUITOS, PERÚ

2021

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

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS N°073-PCGT-FFyB-UNAP-2021/OFICIO N°491-DINV-UNAP-2021

En la ciudad de Iquitos, Distrito de Iquitos, Departamento de Loreto, por vía Zoom de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, a los 29 días del mes de diciembre de 2021, a horas 16:30, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE HOJAS DE *Justicia spicigera*, *Eryngium foetidum* Y CORTEZA DE *Erythrina fusca* L. POR MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS", aprobado con Resolución Decanal N°059-2021-FFyB-UNAP, presentada por el bachiller: JORGE CHÁVEZ IGLESIAS, para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°216-2021-FFyB-UNAP, está integrada por:

- | | |
|---|------------|
| - Q.F. LENIN FERNÁNDEZ ARELLANO, Mtro. | Presidente |
| - Q.F. JACQUELINE MARGOT GONZALES DIAZ DE MORA, Mtra. | Miembro |
| - Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG. | Miembro |

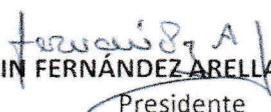
Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: adecuadamente

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

La sustentación pública de la tesis ha sido aprobada con la calificación Buena

Estando el bachiller apto para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Siendo las 5:30 p.m. se dio por terminado el acto académico de sustentación.


Q.F. LENIN FERNÁNDEZ ARELLANO, Mtro.
Presidente

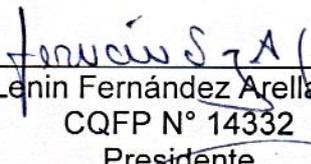

Q.F. JACQUELINE MARGOT GONZALES DIAZ DE MORA, Mtra.
Miembro


Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG.
Miembro


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

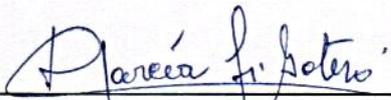

Ing. DORA ENITH GARCÍA DE SOTERO, Dra.
Asesora

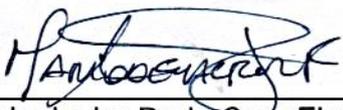
JURADO Y ASESORES


Q.F. Lenin Fernández Arellano, Mtro
CQFP N° 14332
Presidente


Q.F. Jacqueline Margot Gonzales Diaz de Mora, Mtra
CQFP N° 12830
Miembro


Q.F. Henry Vladimir Delgado Wong
CQFP N° 12492
Miembro


Ing. Dora Enith García de Sotero, Dra
CIR N° 21090
Asesora


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

DEDICATORIA

A mis padres Teo y Luz, por haberme brindado todo su apoyo incondicional y enseñarme buenos valores. A mi esposa Rita y mis tres hijos Analía, Lucas y Victoria, a mi tía Leonor por la motivación constante que permitieron que hoy en día sea la persona que soy y por su amor incondicional.

A todos mis hermanos, María, Norma, Tatiana y Angel por su apoyo incondicional en momentos difíciles y por el amor brindado cada día.

Jorge Chávez Iglesias

AGRADECIMIENTOS

A Dios por brindarme salud, bendecir cada paso que doy y haber permitido llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres, a mi esposa e hijos por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su amor y su apoyo incondicional que con su esfuerzo y dedicación me ayudaron a culminar mi carrera universitaria.

A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y meta.

A todos mis profesores quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que pueda crecer día a día como profesional, gracias a cada uno de ustedes por su paciencia, dedicación, apoyo incondicional y amistad.

Finalmente, expresar mi más grande y sincero agradecimiento a mis asesores Ing. Dora Enith García de Sotero, Dra. y Q.F Mario Javier De la Cruz Flores, Mgr. por ser los principales colaboradores durante todo este proceso, quienes con sus direcciones, conocimientos y colaboración permitieron el desarrollo de este trabajo.

ÍNDICE DEL CONTENIDO

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	2
1.1. Antecedentes	2
1.2. Bases teóricas	4
1.3. Definición de términos básicos	13
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	14
2.1. Formulación de hipótesis	14
2.2. Variables y su operacionalización	14
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	16
3.1. Tipo y diseño	16
3.2. Diseño muestral	16
3.3. Procedimientos de recolección de datos	16
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	21
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	25
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	26
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	27
CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN	28
ANEXOS	32
Anexo 1. Constancia de certificación de la especie vegetal	32
Anexo 2. Proceso de extracción de alcaloides a través de equipo extractor Soxhlet	33
Anexo 3. Lectura en equipo espectrofotómetro para cuantificación de alcaloides	33
Anexo 4. Resultados del contenido de saponinas, después de hacer reaccionar la muestra problema con el reactivo Lieberman-Buchner	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Compuestos fenólicos presentes en <i>Justicia spicigera</i> , <i>Eryngium foetidum</i> y <i>Erythrina fusca</i> L.	21
Tabla 2. Descriptivos de los grupos de estudio – compuestos fenólicos	22
Tabla 3. Comparaciones múltiples entre los grupos de estudio – compuestos fenólicos	23
Tabla 4. Contenido de alcaloides presentes en corteza de cada una de las especies vegetales	24
Tabla 5. Contenido de Saponinas presentes en cada una de las especies vegetales evaluados	24

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

RESUMEN

La alta demanda de plantas útiles para el tratamiento de diferentes enfermedades, hace que nuestra región Loreto se muestre como una alternativa prodigiosa de especies vegetales con bondades medicinales, razón que, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar metabolitos secundarios polifenoles totales, saponinas y alcaloides en hojas de *Justicia spicigera*, *Eryngium foetidum* y corteza de *Erythrina fusca* L. por métodos espectrofotométricos. Especies vegetales seleccionadas y colectadas por conveniencia. Los valores obtenidos de compuestos fenólicos presentes en hojas de *J. spicigera*, *E. foetidum* y corteza de *E. fusca* L; siendo mucho más representativo en la especie vegetal *E. foetidum* quien obtuvo resultados mayores con 41889,987 mg/100g para fenoles totales. Para flavonoides con 11,406 mg/100g. Antocianinas 2,517 mg/100g y para catequinas un valor de 0,003 mg/100g. Para Alcaloides, las hojas de *J. spicigera* presentó 6,09 mg/100g, hojas de *E. foetidum* 41,09 mg/100g y corteza de *E. fusca* L 6,02 mg/100g respectivamente. Para Saponinas hojas de *J. spicigera* 6,09 mg/100g, hojas de *E. foetidum* 41,09 mg/100g y corteza de *E. fusca* L 6,02 mg/100g, siendo importante resaltar que *E. foetidum* presenta mayor cantidad, concluyéndose así que es la especie vegetal más representativa en cuantificación de metabolitos secundarios y al que se le puede atribuir actividades farmacológicas, tales como: antioxidante, antiinflamatorio.

Palabras clave: Metabolitos secundarios, *Justicia spicigera*, *Eryngium foetidum*, *Erythrina fusca* L.

ABSTRACT

The high demand for useful plants for the treatment of different diseases, makes our Loreto region appear as a prodigious alternative of plant species with medicinal benefits, which is why the present work aimed to determine total polyphenol secondary metabolites, saponins and alkaloids in leaves of *Justicia spicigera*, *Eryngium foetidum* and bark of *Erythrina fusca* L. by spectrophotometric methods. Vegetable species selected and collected for convenience. The values obtained from phenolic compounds present in leaves of *J. spicigera*, *E. foetidum* and bark of *E. fusca* L; being much more representative in the plant species *E. foetidum* who obtained higher results with 41889.987 mg / 100g for total phenols. For flavonoids with 11,406 mg / 100g. Anthocyanins 2.517 mg / 100g and for catechins a value of 0.003 mg / 100g. For alkaloids, *J. spicigera* leaves presented 6.09 mg / 100g, *E. foetidum* leaves 41.09 mg / 100g and *E. fusca* L bark 6.02 mg / 100g respectively. For saponins, leaves of *J. spicigera* 6.09 mg / 100g, leaves of *E. foetidum* 41.09 mg / 100g and bark of *E. fusca* L 6.02 mg / 100g, being important to note that *E. foetidum* presents a greater quantity, thus concluding that it is the most representative plant species in quantification of secondary metabolites and to which pharmacological activities can be attributed, such as: antioxidant, anti-inflammatory.

Keywords: Secondary metabolites, *Justicia spicigera*, *Eryngium foetidum*, *Erythrina fusca* L

INTRODUCCIÓN

La obtención de metabolitos secundarios de plantas, es uno de los principales intereses de investigación en la actualidad, ya que ella nos permite buscar y conocer de donde provienen (biosíntesis) y su uso de estos en la planta para los diferentes procesos que permitan su crecimiento (alimentación, mecanismos de defensa, interacción con el medio, entre otros), su utilización en reemplazo de productos sintéticos; ayudando a entender mejor las ciencias de la química, biología y la medicina (1).

Las plantas son fuentes de un gran número de productos metabólicos de importancia comercial y son usados en las industrias farmacéutica, alimenticia, de cosméticos y como fuentes de numerosas sustancias de interés agroquímico entre otras (1).

Se estima que más de 100 000 metabolitos secundarios son producidos por las plantas (2). Aproximadamente 1600 estructuras químicas nuevas obtenidas a partir de plantas superiores se describen cada año, de las cuales un gran número tiene actividad biológica (3,4). Esto hace que el estudio de los metabolitos presentes en las plantas sea un enorme reto, de ahí la necesidad de utilizar tecnologías diversas para su producción, caracterización e identificación.

En la región Loreto, existe una gran demanda sobre el uso de plantas medicinales para el tratamiento de diversas enfermedades; y, en su gran mayoría en que estudian los casos, no existe un sustento científico que valide su uso terapéutico o que demuestre ser inocuo.

Es por eso que, en el presente estudio de investigación nuestro objetivo fue determinar los metabolitos secundarios de hojas de *Justicia spicigera*, *Eryngium foetidum* y corteza de *Erythrina fusca* L. por métodos espectrofotométricos, 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 la región Loreto.

CAPITULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

Adiez, A. et al. (2020), determinaron la actividad citotóxica de los extractos metanólicos de hojas, ramas y flores de *Erythrina fusca* Lour. en línea celular de cáncer de hígado humano (HepG2) y línea celular normal de riñón de mono (Vero). En sus resultados, encontraron que los extractos no eran tóxicos en ambas líneas celulares con valores de IC₅₀ superiores a 100 µg / mL e índice terapéutico inferior a 2, asimismo dichos extractos se perfilaron en Cromatografía líquida de ultra alta resolución de fase inversa (UHPLC), de donde los tres extractos exhibieron un perfil de UHPLC diferente; asumiendo que el patrón de actividades citotóxicas podría deberse a la clase de compuestos alcaloides. Concluyeron, que son necesarios más estudios para confirmar e identificar los componentes químicos que dan lugar a los picos en el cromatograma y para fortalecer la afirmación sobre la existencia de alcaloides (5).

Bernardo, E. et al. (2019), evaluaron nanopartículas de plata de *Justicia spicigera* y sus potencialidades antimicrobianas en el biocontrol de bacterias transmitidas por los alimentos y hongos fitopatógenos. Las nanopartículas se caracterizaron mediante técnicas espectroscópicas UV-visible, espectrómetros de rayos X de energía dispersiva (EDS), potencial zeta y dispersión dinámica de luz. La actividad antimicrobiana del AgNP biosintetizado se probó contra bacterias transmitidas por los alimentos (*Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter aerogenes*) y hongos fitopatógenos (*Colletotrichum* sp., *Fusarium solani*, *Alternaria alternata* y *Macrophomina phaseolina*). Como resultados, el perfil elemental de nanopartículas sintetizadas de *J. spicigera* muestra recuentos más altos a 3 keV debido a la plata, lo que confirma la formación de nanopartículas de plata, el análisis de microscopía electrónica de barrido (SEM) mostró un tamaño de partícula entre 86 y 100 nm con morfología esférica y AgNP mostró una actividad antibacteriana y antifúngica eficaz contra los organismos probados principalmente con *B. cereus*, *K. pneumoniae*, *E. aerogenes*, *A. alternata* y *M. phaseolina*; concluyendo que se necesitan

más estudios para confirmar el potencial de AgNP de *J. spicigera* en el control de organismos indicadores en condiciones de campo (6).

Salinas, J. et al. (2019), determinaron la actividad antioxidante y antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Coriandrum sativum* (culantro del país) y *Eryngium foetidum* (sachaculantro). Como metodología antioxidante el extracto etanólico acidificado con 1% de ácido fórmico y por medio del espectrofotómetro UV-Vis determinaron la presencia de diferentes compuestos, asimismo evaluaron la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos frente a *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*, por el método de difusión en disco y por el método de macrodilución. Reportaron la presencia de diferentes compuestos, siendo los más representativos para *C. sativum* (culantro del país) las antocianinas ($38,3686 \pm 3,6416$ mg de cianidina-3-glucosido/100g de muestra original) y los flavonoides ($30,45 \pm 0,09$ gramos de quercetina/100g muestra original) y para *E. foetidum* (sachaculantro) los fenoles totales ($192,415 \pm 0,097$ mg EAG/100 g muestra original) y los flavonoides ($10,34 \pm 0,0$ g de quercetina/100g muestra original); también la presencia de carotenos y retinol (7).

Beltrán, C. et al. (2013), realizaron el tamizaje fitoquímico preliminar de 39 especies de plantas promisorias de la costa atlántica colombiana sobre 45 extractos etanólicos, incluida las hojas de *Eryngium foetidum* L. Como metodología recolectaron cada uno de los órganos de las especies vegetales; la droga fresca fue sometida a extracciones sucesivas con etanol 98 % y en los extractos se identificaron diferentes grupos de metabolitos secundarios. En sus resultados, las hojas de *Eryngium foetidum* L. presentaron glicósidos cardiotónicos (+), triterpenos/esteroides (+) y quinonas (++) . Concluyeron la presencia de flavonoides como fitoconstituyentes más abundantes en las especies *Sarcostemma clausum* (Jacq) Schult., *Sterculia apetala* (Jacq.) H. Karst., *Diospyros inconstans* Jacq., *Ceratopteris pteridoides* Hooker., *Cordia dentata* Poir., *Cecropia peltata* L. y *Gustavia superba* (Kunth) O. Berg. y que los resultados mencionados constituyen un apoyo para continuar con estudios farmacológicos y químicos de estas especies (8).

Ibarra, E. et al. (2011), evaluaron la actividad antioxidante de alcaloides de *Erythrina americana* Miller, en fracciones de alcaloides libres hexánicos y metanólicos, liberados metanólicos y de erisodina, obtenidas de semillas de *Erythrina americana* Miller, mediante el método del radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Como metodología lo realizaron por espectroscopía UV-Visible. En sus resultados, la fracción de alcaloides liberados presentó mayor actividad antioxidante ($0,1593 \text{ mg mL}^{-1} \pm 0,0305$), aunque las tres fracciones crudas inhibieron más de 50 % de la concentración del DPPH. Aislaron erisodina pura a partir de la fracción de alcaloides liberados por medio de cromatografía en columna con los diluyentes diclorometano, metanol en distintas polaridades; dicho alcaloide identificaron a través de cromatografía en capa fina y RMNH¹. Concluyeron que erisodina causó una fuerte inhibición sobre el DPPH, comparable a la del ácido ascórbico ($CI_{50} = 0,0212 \text{ mg mL}^{-1} \pm 0,008$ y $CI_{50} = 0,0068 \text{ mg mL}^{-1} \pm 0,0008$, respectivamente). erisodina a $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ inhibió hasta 94 % del DPPH (9).

1.2. Bases teóricas

1.2.1 Especies en estudio

A. *Justicia spicigera* “insulina”

Identificación taxonómica

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	:	Lamiales Bromhead.
Familia	:	Acanthaceae Juss.
Género	:	<i>Justicia</i>
Especie	:	<i>Justicia spicigera</i> Schltdl (10).

Sinonimias: *Jacobinia spicigera* Schlec., L. H. Bailey; *Justicia atramentaria* Benth.; *Sericographis mohintli* Nees; *Justicia mohintli* Hemsley; *Jacobinia scarlatina* Blake (10).

Descripción botánica: es una planta nativa de México y Sudamérica que crece en clima cálido a templado (10).

Usos tradicionales: la decocción, la infusión y la tintura de sus hojas son usadas en el tratamiento de diversas enfermedades, tales como anemia, gastritis, diarrea, disentería, bronquitis, influenza, enfermedades de la piel y varios tipos de cáncer, especialmente cervicouterino y leucemia (10).

B. *Eryngium foetidum* L. “sacha culantro”

Identificación taxonómica

Reino : Plantae
División : Magnoliophyta
Clase : Equisetopsida
Orden : Apiales Nakai
Familia : Marantaceae
Género : *Eryngium* L.
Especie : *Eryngium foetidum* L. (11)

Distribución: Antioquia, Bolivia, China, Ecuador, Mesoamericana, Nicaragua, Panamá, Perú.

Sinonimias: *Eryngium antihystericum* Rottb., *Eryngium foetidum* fo. *comosum* Urb., *Eryngium molleri* Gand.

Nombres comunes: culantro, chicoria (portugués); losawiwiri, kwinti y snekiwiri (Surinam).

Descripción botánica: planta herbácea erecta con olor fuerte, glabra, de hasta 40 cm de alto, presenta una roseta basal de hojas angostamente aovadas, obtusas, trilobadas o dentadas y con espinas. Flores en densas cabezuelas de color verde, rodeadas por brácteas espinosas (12).

Distribución geográfica: originaria de la Amazonía occidental. Cultivada en toda América tropical. En el Perú, ampliamente distribuida en Loreto y Ucayali (Atalaya) (12).

Componentes químicos: contenido en 100 g de materia seca de las hojas: Proteínas 0,7 g, lípidos 0,2 g, carbohidratos 6,4 g, calcio 6,0 mg, caroteno 1 mg, tiamina 0,03 mg, riboflavina 0,04 mg, niacina 0,4 mg, ácido ascórbico 5,7 mg (12).

Uso medicinal: acelerador del parto, dolor de estómago, espasmos, fiebre, flatulencia, gripe y resfrío, insomnio, vómito.

Otros Usos: Se emplea como sazónador en las comidas, especialmente las que son a base de pescados (12).

C. *Erythrina fusca* L. “amasisa”

Identificación taxonómica

Reino : Plantae
División : Magnoliophyta
Clase : Equisetopsida
Orden : Fabales Bromhead
Familia : Fabaceae
Género : *Erythrina*
Especie : *Erythrina fusca* L. (13)

Nombres comunes: Gallito, swamp immortelle, porotillo (inglés) (13).

Distribución geográfica: en el Perú, en los departamentos de Loreto y San Martín. También se localiza en todo el Neotrópico, el Pacífico y Madagascar.

Descripción botánica: árbol de hasta 25 m de alto, el tronco presenta espinas. Hojas con 3 hojuelas, ovadas o elípticas, obtusas en la base y ápice, pálidas y suavemente pubérulas. Inflorescencia

terminal en racimo con poca floración. Flores con cáliz campanulado de 1-1,5 cm de ancho, corola de color anaranjado claro. Fruto moniliforme de 10 a 20 cm de largo y 1,5 cm de ancho. Semillas en número de 2 por fruto, de color marrón o pardo (14).

Química: alcaloides, heterósidos cianogénéticos, mucílagos, saponinas, triterpenos (15).

1.2.2 Metabolitos secundarios

Metabolismos secundarios, referidos a compuestos químicos obtenidos y/o sintetizados por las plantas, cumplen funciones no esenciales en ellas. Los metabolitos secundarios, son moléculas que no son necesarias para el crecimiento y reproducción de las plantas, pero, estas cumplen roles importantes dentro del reino vegetal. Existen cuatro clases que son significativos para el ser humano, entre las que destacan: alcaloides, terpenoides y compuestos nitrogenados relacionados, fenilpropanoides y compuestos fenólicos relacionados y flavonoides.

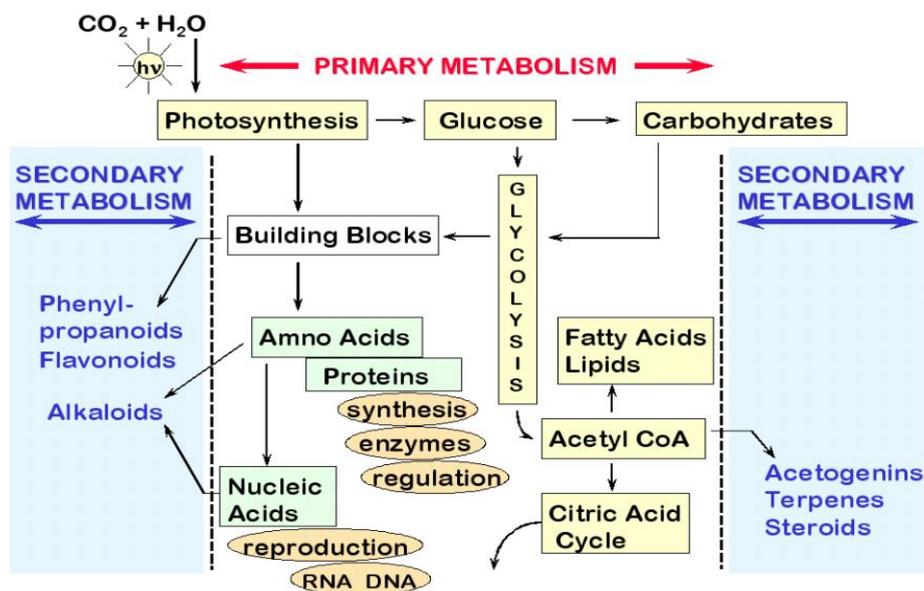


Figura 1. Elementos básicos del metabolismo primario y en relación con el metabolismo secundario de plantas

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

Dicho metabolismo es la química que da origen a un producto natural, siendo usualmente diferente de una planta a otra; ya que, por precursores químicos comunes, pueden conducir a resultados completamente diferentes.

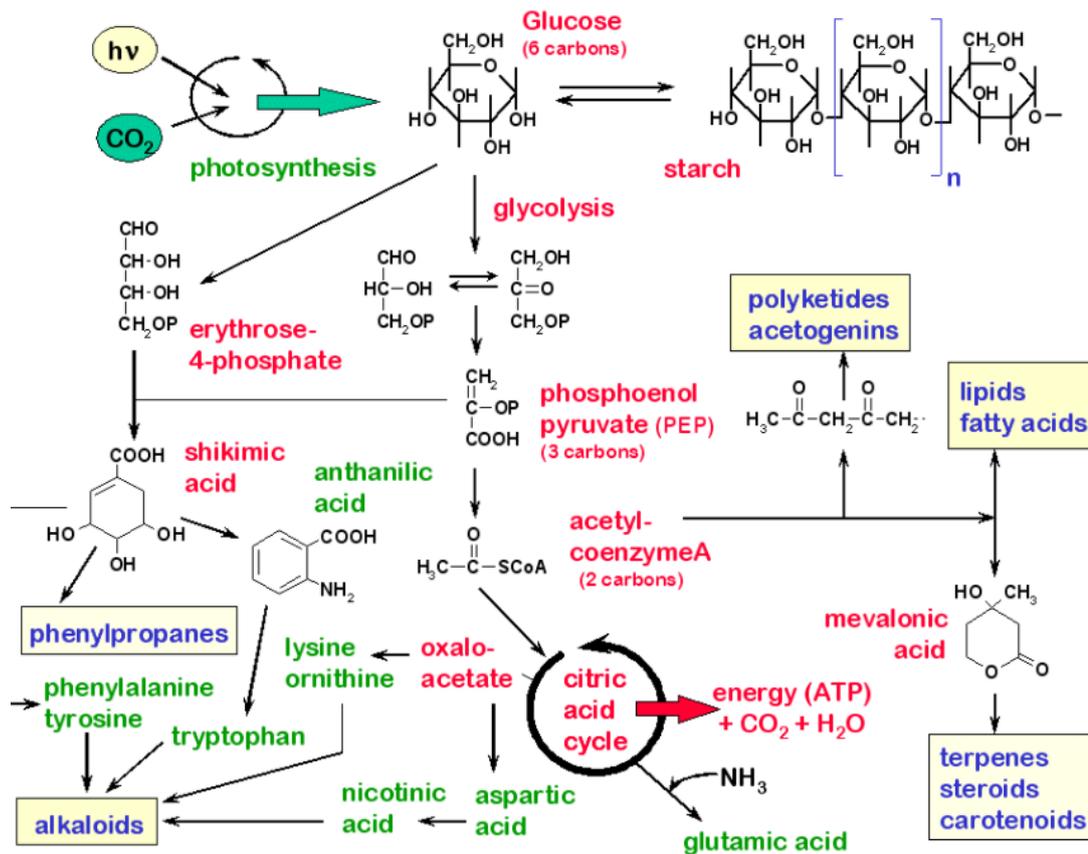


Figura 2. Origen de algunos metabolitos secundarios (alcaloides, fenilpropanoides y terpenos) en el metabolismo primario

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

Los metabolitos secundarios poseen otras características, tales como:

- Presentan distribución diferente en el reino vegetal.
- Consideradas importantes para la supervivencia e interacción con el entorno.
- No presentan funciones metabólicas directas aparentes.
- No ser clasificados como secundarios, basándose en su estructura, ruta biogénica o tipo de distribución.

Flavonoides: Entre sus propiedades físicas, dependen de la clase de flavonoide considerado y hasta su forma (es decir, libre, sulfato o glicósido). Los flavonoles, flavonas y auronas poseen un sistema conjugado. Estos son sólidos con colores que van desde amarillo muy tenue hasta rojo.

Las antocianidinas presentan color violeta, rojo intenso, azul y morado. Las flavanonas y flavanoles presentan rotación óptica, esto se debe al carbono quiral C-2.

Los glicósidos, de manera general son sólidos amorfos, las agliconas y los altamente metoxilados son cristalinos (16-18).

Los flavonoides como parte de su naturaleza química, su solubilidad depende de la forma en que estos se encuentren, además del número y clase de sustituyentes presentes. Las antocianidinas, los glicósidos y los sulfatos son solubles en alcohol y agua. Las agliconas flavonoides altamente hidroxiladas, presentan solubilidad en alcohol metanol, etanol y n-butanol; en tanto que las poco hidroxiladas son solubles en solventes de acetato de etilo, acetona y éter etílico. Las agliconas flavonoides altamente metoxiladas, presentan solubilidad en solventes menos polares, por ejemplo: éter de petróleo, cloroformo (21-22).

Los flavonoides con hidroxilos fenólicos, presentan solubilidad en soluciones alcalinas; pero, algunos altamente hidroxilados se descomponen por acción de las bases fuertes, hecho importante para reconocerlos y diferenciarlos (17).

Distribución: Los flavonoides, podemos encontrarlos distribuidos en plantas verdes (angiospermas), asimismo, algunos se han detectado en algas y hongos. Se han encontrado en las diferentes partes de las plantas, especialmente en las partes aéreas; y se les encuentra en forma libre (también llamados agliconas flavonoides), como glicósidos, como sulfatos y algunas veces como dímeros y polímeros. Los glicósidos pueden ser:

- a. Con los carbohidratos ligados a través de átomos de oxígeno (enlace hemiacetal) es decir como O-glicósidos (son los más comunes de encontrar).
- b. Con los carbohidratos ligados a través de enlaces C-C, es decir como C-glicósidos.

Las antocianinas, se encuentran como sales principalmente en frutos, flores y tejidos con ciertas coloraciones que van desde el rojo hasta el violeta y el azul, siendo importante resaltar que muy pocas veces se encuentran varias clases de flavonoides en un mismo tejido vegetal (17,21,23).

Clasificación: (21)

- a. Flavonas.
- b. Flavanonas.
- c. Flavonoles.
- d. Flavandioles (leucoantocianos).
- e. Antocianos.
- f. Chalconas.
- g. Uronas.

Actividad farmacológica: Se les atribuye propiedades farmacológicas, tales como: actividades inhibitorias de enzimas (hidrolasas, ciclooxigenasas, fosfatasa alcalina, cAMP fosfodiesterasas, ATPasas, liasas, hidroxilasas, transferasas, oxidoreductasas y kinasas), anticancerígena, antiinflamatoria, antiviral y antibacterial.

Asimismo, se les atribuye inhibición sobre agregación plaquetaria, con acción vasodilatadora (eriodictyol, naringenina y luteolina), con acción antiarrítmica, chalconas con acción antimicótica y antibacteriana, la 3-ramnosilquercetina presenta actividad antidiarréica, isoflavanquinonas con potente actividad antiinflamatoria y antialérgica, flavonoles con actividad antiespasmolítica, isoflavonas y flavanonas antimicóticas, isoflavanos antimicrobianos y flavanos con actividad leishmanicida (16,17,22).

Alcaloides: consideradas sustancias orgánicas de origen vegetal, que en pequeñas dosis presentan una actividad fisiológica intensa. En su estructura presentan nitrógeno y generalmente están combinados con taninos o ácidos orgánicos.

Representan del 0,1 al 3% del peso seco de la planta. En la actualidad, se conocen alrededor de 4000 alcaloides y podemos encontrarlas en algunas familias botánicas: Amarilidáceas, Buxacáceas, Euforbiáceas, Papaveraceas, Liliáceas, Ranunculáceas, Solanáceas y Asteráceas; además de otras más (16,18).

Los alcaloides como parte de su naturaleza química, son consideradas sustancias relativamente tóxicas que actúan sobre el sistema nervioso central, presentan carácter básico, en su estructura contienen nitrógeno heterocíclico y son sintetizados en plantas partiendo de aminoácidos y derivados inmediatos (16); los podemos encontrar ampliamente distribuidos en el reino vegetal, aunque se ha evidenciado que ciertos grupos están característicamente exentos de ellos (23).

Pueden ser sólidos, solubles en alcohol o insolubles en agua. Se extraen mediante agua, con álcalis, alcohol y con disolventes orgánicos apolares. Presenta una función reguladora y protege a la especie contra los insectos y parásitos (24).

Actividad farmacológica: Tanto en farmacología, en medicina y fitoterapia, es empleada en estado puro o por químiósisntesis como drogas vegetales tales como: quinina, morfina.

Alrededor de 30 de los alcaloides conocidos se usan en medicina:

- a. La atropina, obtenida de la belladona, dilata las pupilas
- b. La morfina es un poderoso calmante.
- c. La quinina, remedio específico para la malaria.
- d. La nicotina, es un potente insecticida.
- e. La reserpina, usado como un tranquilizador.

- f. Asimismo, para infusiones se utilizan (cafeína, té) y en bebidas refrescantes (colas) (17).

Saponinas: considerados glicósidos esteroides con un núcleo espirostano, las mismas que presentan la bondad de hemolizar los glóbulos rojos y forman espuma abundante y estable al agitar sus soluciones acuosas (12).

Hidrólisis: Como O-glicósidos, se hidrolizan fácilmente en medio enzimático o ácido; ya que ambos procesos liberan una a varias unidades de carbohidratos ligados, y asimismo la denominada sapogenina esteroide (24).

1.2.3 Algunos métodos para análisis cualitativo de metabolitos secundarios

Determinación de la presencia de alcaloides: Se toma una alícuota de 10 ml (muestra problema), se evapora a sequedad en baño de maría, el residuo que se obtiene se disuelve en 3 ml de HCl al 2%, esta suspensión se divide en 3 alícuotas de 1 ml cada una, a cada una de esas alícuotas se les agrega Reactivo de Meyer, Reactivo de Wagner y Reactivo de Dradendoff, reacciones de precipitación representan la presencia de alcaloides (26-28).

Determinación de la presencia de saponinas: Se toma una alícuota de 5ml (muestra problema) se agrega 45 ml de agua, se calienta la mezcla a 60 grados Celsius durante media hora, se agita durante 10 minutos, si se mantiene la espuma 30 minutos a más de 3 cm. de altura, representa la presencia de saponinas (26-28).

Prueba de caracterización de saponinas: Estos se realizan por medio de un test de hemólisis utilizando cajas de agar sangre para el mismo, un test de espuma y una prueba química con el reactivo de Lieberman-Bouchard, con lo que se puede determinar el tipo de saponina a la que pertenece el compuesto, de la siguiente forma:

- Positivo para todos los test y en el reactivo de Lieberman-Bouchard azul o verde, fueron saponinas esteroidales.
- Positivo para todos los test, y en el reactivo de Lieberman-Bouchard rojo, púrpura o violeta, fueron saponinas triterpenoides.
- Positivo para todos los test, y en el reactivo de Lieberman-Bouchard negativo, amarillo pálido, fueron saponinas de heterosidos de esteroides saturados o triterpenos saturados.
- Positivo o negativo para test de hemólisis, negativo el test de espuma y positivo para test de Lieberman-Bouchard, saponinas ausentes, triterpenos libres, diterpenos, esteroides o sustratos policíclicos relacionados (26-28).

Determinación de la presencia de flavonoides: Se toma una de las alícuotas de 10 ml (muestra problema y se evapora), el residuo se disuelve en metanol al 50%, seguidamente se le agregan raspas de Mg y 1 ml de HCl concentrado y se espera 10 minutos la reacción, una coloración roja representó la presencia de flavonoides (26-28).

1.3. Definición de términos básicos

- Metabolitos secundarios: compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es letal para el organismo, al contrario que los metabolitos primarios. Los metabolitos secundarios intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente (29).
- Saponinas: son compuestos naturales, glicósidos de esteroides o triterpenoides caracterizados desde el punto de vista estructural por presentar enlaces glicosídicos y/o éster entre una genina poco polar y restos glucosídicos (30).

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1. Formulación de hipótesis

La determinación de metabolitos secundarios: polifenoles totales, flavonoides, antocianinas, catequinas, alcaloides y saponinas en hojas de *Justicia spicigera*, *Eryngium foetidum* y corteza de *Erythrina fusca* L., es posible realizarlo por métodos espectrofotométricos.

2.2. Variables y su operacionalización

Variable de estudio

Cuantificación de metabolitos secundarios polifenoles totales, flavonoides, antocianinas, catequinas, alcaloides, saponinas en hojas de *J. spicigera*, *E. foetidum* y corteza de *E. fusca* L., por métodos espectrofotométricos.

Indicador: mg/100g.

Operacionalización de variables

Variable	Definición operacional	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Medio de verificación
Metabolitos secundarios	Compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, entre otros. Son identificados por diferentes reacciones químicas de coloración, precipitación u otras.	Cuantitativa	mg/100g	Razón	Hoja de reporte analítico

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño

Tipo de estudio: descriptivo, debido a que la intervención fue a propósito de la investigación y al mismo tiempo cumplió con la asignación aleatoria de un grupo control.

Diseño: experimental, porque se recopiló y analizó los datos obtenidos de distintas fuentes con intervención del investigador, se controló deliberadamente las variables para delimitar relaciones entre ellas a fin de medir los resultados de manera concluyente.

3.2. Diseño muestral

Población: estuvo constituida por constituida por las especies vegetales *J. spicigera*, *E. foetidum* y *E. fusca* L.

Muestra: dos (02) kg de hojas y corteza.

Muestreo o selección de la muestra: fueron colectadas por conveniencia, en la comunidad de Zungarococha, tomando datos geo-referenciados del lugar donde serán situadas.

Criterios de selección: se incluyó material vegetal identificado en buen estado de conservación.

3.3. Procedimientos de recolección de datos

A) Obtención del material botánico

Colecta de especies vegetales: utilizando tijeras podadoras, se cortó suficiente cantidad de hojas de *J. spicigera*, *E. foetidum* y corteza de *E. fusca* L. a ser estudiadas. Se depositó en sobres de manila debidamente rotulados, en donde se mantuvieron hasta su llegada al laboratorio.

Preparación y limpieza de muestras vegetales: se limpiaron las hojas, cortezas y se cortaron en pequeños fragmentos. Al mismo tiempo se realizó una selección de cortezas 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, según corresponda.

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 (micropulverizada). El pulverizado se guardó en frascos de color ámbar para su posterior uso en los diferentes ensayos.

B) Determinación de metabolitos secundarios

Cuantificación de compuestos fenólicos: se utilizaron las técnicas espectrofotométricas de UV/vis descritos por Valls *et al.* (31).

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 utilizaron patrones de ácido gálico de concentraciones entre 0 - 1.000 mg/L (31).

Determinación de antocianinas y flavonoides totales: De lo obtenido de la preparación del extracto, se efectuó la determinación de antocianinas a una absorbancia de 535 nm y para los flavonoides se realizó la lectura a 374 nm (31).

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 (31).

Análisis de alcaloides: Los materiales vegetales (5g) micropulverizadas 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 a neutro con 0,1N NaOH. A continuación, se añadieron 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 (32)

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/m, 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 de 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 están agrupados y presentados en tablas; y, se expresaron en valores medios \pm desviación estándar con sus respectivas pruebas de significancia al 95% según la prueba T3 Dunnet. 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 tuvo 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

Tabla 1. Compuestos fenólicos presentes en *Justicia spicigera*, *Eryngium foetidum* y *Erythrina fusca* L.

Especies en estudio	Fenoles Totales mg/100g	Flavonoides mg/100g	Antocianinas mg/100g	Catequinas mg/100g
<i>J. spicigera</i>	38576,475	6,033	1,684	0,003
<i>E. foetidum</i>	41889,987	11,406	2,517	0,003
<i>E. fusca</i> L	28552,885	7,159	1,710	0,003

Fuente: elaboración propia

Se muestra los valores obtenidos de compuestos fenólicos presentes en las hojas de *J. spicigera*, *E. foetidum* y corteza de *E. fusca* L; siendo *E. foetidum* quien obtuvo resultados mayores con 41889,987 mg/100g para fenoles totales. Para flavonoides con 11,406 mg/100g. Antocianinas 2,517 mg/100g y para catequinas un valor de 0,003 mg/100g.

Tabla 2. Descriptivos de los grupos de estudio – compuestos fenólicos

Grupos de estudio		N	Media	Desviación estándar	Límite inferior	Límite superior
Fenoles_totales	<i>J. spicigera</i>	2	38576,475	144,411	37278,994	39873,956
	<i>E. foetidum</i>	2	41889,987	379,408	38481,141	45298,833
	<i>E. fusca</i> L	2	28552,886	640,210	22800,831	34304,940
	Total	6	36339,783	6220,311	29811,967	42867,598
Flavonoides	<i>J. spicigera</i>	2	6,033	0,130	4,865	7,200
	<i>E. foetidum</i>	2	11,406	0,170	9,881	12,931
	<i>E. fusca</i> L	2	7,159	0,057	6,651	7,667
	Total	6	8,199	2,536	5,538	10,861
Antocianinas	<i>J. spicigera</i>	2	1,865	0,059	1,157	2,212
	<i>E. foetidum</i>	2	2,517	0,065	1,933	3,101
	<i>E. fusca</i> L	2	1,711	0,019	1,539	1,882
	Total	6	1,971	0,425	1,524	2,417
Catequinas	<i>J. spicigera</i>	2	0,003	0,000	0,003	0,003
	<i>E. foetidum</i>	2	0,003	0,000	0,003	0,003
	<i>E. fusca</i> L	2	0,003	0,000	0,003	0,003
	Total	6	0,003	0,000	0,003	0,003

Fuente: elaboración propia

Se observa el promedio, desviación estándar, límite inferior y límite superior obtenido para cada uno de los Grupos de estudio *J. spicigera*, *E. foetidum* y *E. fusca* L en lo referido a Fenoles totales, flavonoides, antocianinas y catequinas, con los respectivos intervalos de confianza al 95%.

Tabla 3. Comparaciones múltiples entre los grupos de estudio – compuestos fenólicos

T3 Dunnett

Variable dependiente	(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
Fenoles_totales	<i>J. spicigera</i>	<i>E. foetidum</i>	-3313,512	287,058	0,054	-6811,439	184,415
		<i>E. fusca</i> L	10023,590*	464,070	0,038	2247,540	17799,639
	<i>E. foetidum</i>	<i>J. spicigera</i>	3313,512	287,058	0,054	-184,415	6811,439
		<i>E. fusca</i> L	13337,102*	526,222	0,008	8996,790	17677,413
	<i>E. fusca</i> L	<i>J. spicigera</i>	-10023,590*	464,070	0,038	-17799,639	-2247,540
		<i>E. foetidum</i>	-13337,102*	526,222	0,008	-17677,413	-8996,790
Flavonoides	<i>J. spicigera</i>	<i>E. foetidum</i>	-5,373*	0,151	0,002	-6,407	-4,339
		<i>E. fusca</i> L	-1,126*	0,100	0,048	-2,216	-0,035
	<i>E. foetidum</i>	<i>J. spicigera</i>	5,373*	0,151	0,002	4,339	6,407
		<i>E. fusca</i> L	4,247*	0,126	0,016	2,543	5,951
	<i>E. fusca</i> L	<i>J. spicigera</i>	1,126*	0,100	0,048	0,035	2,216
		<i>E. foetidum</i>	-4,247*	0,126	0,016	-5,951	-2,543
Antocianinas	<i>J. spicigera</i>	<i>E. foetidum</i>	-0,833*	0,062	0,012	-1,230	-0,435
		<i>E. fusca</i> L	-0,026	0,044	0,901	-0,624	0,572
	<i>E. foetidum</i>	<i>J. spicigera</i>	0,833*	0,062	0,012	0,435	1,230
		<i>E. fusca</i> L	0,807*	0,048	0,043	0,104	1,509
	<i>E. fusca</i> L	<i>J. spicigera</i>	0,026	0,044	0,901	-0,572	0,624
		<i>E. foetidum</i>	-0,807*	0,048	0,043	-1,509	-0,104

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

Se observa los resultados de las comparaciones múltiples entre los grupos de estudio aplicando la prueba T3 Dunnett, encontrándose que todos los grupos producen diferentes cantidades de fenoles totales, flavonoides y antocianinas.

Tabla 4. Contenido de alcaloides presentes en cada una de las especies vegetales

Especie vegetal	Parte usada	Alcaloides mg/100g
<i>J. spicigera</i>	Hojas	6,09
<i>E. foetidum</i>	Hojas	41,09
<i>E. fusca</i> L	Corteza	6,02

Fuente: elaboración propia

Alcaloides presentes en hojas de *J. spicigera* 6,09 mg/100g, hojas de *E. foetidum* 41,09 mg/100g y corteza de *E. fusca* L 6,02 mg/100g respectivamente.

Tabla 5. Contenido de Saponinas presentes en cada una de las especies vegetales evaluadas

Especie vegetal	Parte usada	Saponinas	
		mg/g	mg/100g
<i>J. spicigera</i>	Hojas	1,5277	153,58
<i>E. foetidum</i>	Hojas	1,1861	118,85
<i>E. fusca</i> L	Corteza	2,4968	252,91

Saponinas presentes en hojas de *J. spicigera* con 153,58 mg/100g, hojas de *E. foetidum* con 118,85 mg/100g y corteza de *E. fusca* L con 252,91 mg/100g, siendo importante resaltar que *E. fusca* L presenta mayor cantidad.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos, confirman la presencia de metabolitos secundarios en hojas de *Justicia spicigera*, *Eryngium foetidum* y corteza de *Erythrina fusca* L. El género *Justicia* presenta propiedades medicinales atribuidas como hipoglicemiante, antiinflamatorio; y, esta información es concordante con las investigaciones planteadas por algunos autores sobre *J. secunda*, quien presenta diversos metabolitos secundarios entre los que destacan alcaloides, taninos, cumarinas, glucósidos fenólicos, triterpenos y/o esteroides, presentes en extractos hidroalcohólicos y que son beneficiosos en la salud, en tanto que actúan como: antimicrobianos, antisépticas, antioxidantes, anticancerígenos y antiinflamatorios dando realce a un alto potencial farmacológico (33). Además, *Justicia spicigera* también presenta propiedades insecticidas (similar a *J. secunda*) ya que posee una pigmentación característica en sus extractos (presencia de antocianinas) siendo utilizadas por su eficacia contra la anemia en los estudios realizados por **Moswa et al.** y **Mpiana et al.** (34-35); asimismo, en extractos metanólicos baja toxicidad frente *Artemia franciscana* en mérito a lo declarado por **Cantillo et al.** (36).

Nuestro estudio guarda relación con lo estudiado por **Salinas, J. et al.** (7), ya que por medio del espectrofotómetro UV-Vis, determinaron la presencia de diferentes compuestos en *E. foetidum* (sachaculantro), tales como: fenoles totales (192,415±0,097mg EAG/100 g muestra original) y flavonoides (10,34±0,0g de quercetina/100g muestra original); también la presencia de carotenos y retinol.

Asimismo, coincide con lo manifestado por **Adiez, A. et al.** (5), en tanto a que extractos de *Erythrina fusca* Lour. por Cromatografía líquida de ultra alta resolución de fase inversa (UHPLC), de donde los tres extractos metanólicos de hojas, ramas y flores exhibieron un perfil de UHPLC diferente; asumiendo que el patrón de actividades citotóxicas podría deberse a la existencia de compuestos alcaloides.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

- Los valores obtenidos de compuestos fenólicos presentes en hojas de *J. spicigera*, *E. foetidum* y corteza de *E. fusca* L; siendo mucho más representativo en la especie vegetal *E. foetidum* quien obtuvo resultados mayores con 41889,987 mg/100g para fenoles totales. Para flavonoides con 11,406 mg/100g. Antocianinas 2,517 mg/100g y para catequinas un valor de 0,003 mg/100g.
- Para Alcaloides, las hojas de *J. spicigera* presentó 6,09 mg/100g, hojas de *E. foetidum* 41,09 mg/100g y corteza de *E. fusca* L 6,02 mg/100g respectivamente.
- Para Saponinas hojas de *J. spicigera* 6,09 mg/100g, hojas de *E. foetidum* 41,09 mg/100g y corteza de *E. fusca* L 6,02 mg/100g, siendo importante resaltar que *E. foetidum* presenta mayor cantidad.
- La determinación de metabolitos secundarios: polifenoles totales, flavonoides, antocianinas, catequinas, alcaloides y saponinas en hojas de *Justicia spicigera*, *Eryngium foetidum* y corteza de *Erythrina fusca* L., es posible realizarlo por métodos espectrofotométricos.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

- Con los resultados obtenidos, el presente trabajo abre las perspectivas para otras evaluaciones de especies vegetales en lo referido a metabolitos secundarios, que sean utilizadas en la etnomedicina, así como a nivel agroindustrial.
- Dado cuenta que *Justicia spicigera* Schltl, posee características tintóreas, produce un colorante azul debido a sus metabolitos secundarios presentes en las hojas de, siendo de vital importancia aprovechar el colorante, ya que no ha sido utilizado en la industria cosmética, farmacéutica o alimenticia; posee flavonoides que tiene función antioxidante y que muchos de los colorantes sintéticos actualmente presentan muchos inconvenientes como: enrojecimiento de la piel, reacciones alérgicas.
- Es importante que la presente investigación, pueda ser utilizada como una guía metodológica para la realización y cuantificación de metabolitos secundarios en otras especies vegetales amazónicas.

CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Karuppusamy S. A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by in vitro tissue, organ and cell cultures. Journal of Medicinal Plants Research. 2009 Diciembre; 3(13);1222-1239.
2. Ritu Bhalla KN&SS. Metabolomics and its role in understanding cellular responses in plants. Springer link. 2005 Octubre; 24;562-571.
3. Sajc L, Grubišić D, Vunjak-Novaković G. Bioreactors for plant engineering: an outlook for further research. Biochemical Engineering Journal. 2000; 4(2);89-99.
4. Fiehn O. Metabolomics-the link between genotypes and phenotypes.. Plant Molecular Biology. 2002 Febrero; 48(1-2);155-171.
5. Adiez A., Norina R., Zuriati Z., Fatimah S. Cytotoxic Activity of *Erythrina fusca* Lour. Leaf, Twig and Flower extracts. Malaysian Journal of Analytical Sciences Vol 24 No 3 (2020): 313 - 319
6. Bernardo E., Valdez B., González D., Abdelmoteleba A., Tzintzun O., Ceceña C., Gutiérrez F. Silver nanoparticles from *Justicia spicigera* and their antimicrobial potentialities in the biocontrol of foodborne bacteria and phytopathogenic fungi. Rev Argent Microbiol. 2019;51(2):103-109
7. Jiménez J., Imán A. Actividad antioxidante y bacteriana in vitro de las hojas de *Coriandrum sativum* (culantro) y *Eryngium foetidum* (sachaculantro) frente a dos bacterias. [Tesis de grado para optar el título de Licenciado en Bromatología y Nutrición humana]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (2019). Disponible en: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/4105> Fecha de acceso: 23 Marzo 2020.
8. Beltrán C., Díaz F., Gómez H. Tamizaje fitoquímico preliminar de especies de plantas promisorias de la costa atlántica colombiana. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2013;18(4):619-631.
9. Ibarra E., Pacheco M., García R., San Miguel R., Ramírez G. y Soto R. Actividad antioxidante de alcaloides de *Erythrina americana* Miller. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 34 (4): 241 - 246, 2011.
10. *Justicia spicigera*. Disponible en: <http://legacy.tropicos.org/Name/102673>.

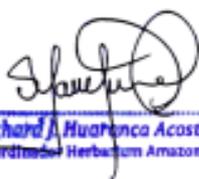
11. *Eryngium foetidum* L. Taxonomy Browser. Disponible en: <http://legacy.tropicos.org/Name/1700080> Fecha de acceso: 28 de Noviembre 2019.
12. Sacha culantro. Disponible en: http://minagri.gob.pe/portal/download/pdf/sectoragrario/agricola/lineasdecultivoemergentes/SACHA_CULANTRO.pdf Fecha de acceso: 04 enero 2020.
13. *Erythrina fusca*. Disponible en: <http://legacy.tropicos.org/name/13071263>
14. Amasisa. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/CDinvestigacion/IIAP/IIAP2/CapituloIII-03.htm>
15. Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. 3ra Edición Zaragoza. Editorial Acribia (1999), pág. 1987.
16. Lores J, Torriani H, Lamdan S. Farmacoquímica: Síntesis, estructura y propiedades de medicamentos orgánicos. 6ta Edición - Buenos Aires. Editorial Eudeba (1996)(2), pág. 1589.
17. Varro E, Lynn R, James R. Farmacognosia. 12va Edición - Buenos Aires. Editorial El Ateneo (1999), pág. 459.
18. Lastra JJ, Bachiller LI. Plantas medicinales en Asturias y la Cornisa Cantábrica. Gijón Ediciones. Editorial Trea (1997), pág. 291.
19. Litter M. Compendio de farmacología. 14va Edición - Buenos Aires. Editorial El Ateneo (1998), pág. 932.
20. Litter M. Farmacología: experimental y clínica. 15va Edición - Buenos Aires. Editorial El Ateneo (1999), pág. 1991.
21. García F, Salvá J, Laporte J. Farmacología experimental y terapéutica general. 15va Edición – Barcelona. Editorial Salvat (1999), pág. 713.
22. Evans W. Trease y Evans. Farmacognosia. 13va Edición – Madrid. Editorial Interamericana (1991), pág. 971.
23. Villar A. Farmacognosia General. 5ta Edición - Madrid. Editorial Síntesis (1999), pág. 1254.
24. Gruenwald J, Brendler T, Janicke C, PDR for Herbal Medicines. 2da Edición – Montvale. Editorial Medical Economics Company (2000), pág. 1265.

25. Santa Cruz L. Guía práctica de productos naturales y fitoquímica. 1ra Edición – Guatemala. Editorial Universitaria (1995), pág. 100
26. Sharapin N. Screening fitoquímico. Brazil (1999), pág. 150
27. Tally, W. 1999. Seminario taller mesoamericano, metabolitos de interés nutricional en plantas comestibles de la región. Guatemala: Universidad San Carlos de Guatemala. 26 al 30 de abril.
28. Martinez A., N.C. Contenido de sapogeninas esteroidales en agaves de ciclo corto: *Manfreda brachystachis* (cav.) Rose (rizosomas). Universidad de la Habana, 1993.
29. 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. 19(2): 119-124. 2000.
30. Shamsa F., Monsef H., Ghamooshi R., Verdian-rizi M. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. Thai J. Pharm. Sci. 2008; N°32, 17-20.
31. Correa G, Alcantara A. Chemical constituents and biological activities of species of Justicia. Brazilian Journal of Pharmacognosy. 2011;22(1):220-38.
32. Moswa J, Kapanda N, Mungende D, Okitolonda W, Mayangi M, Mihigo S. et al. Plants as an important source of iron for the treatment of anaemia: case of Justicia secunda. 11th NAPRECA Symposium Book of Proceedings Antananarivo, Madagascar. 2003;132-35.
33. Mpiana T, Ngbolua K, Bokota M, Kasonga K, Atibu E, Tshibangu Tet al. In vitro effects of anthocyanin extract from Justicia secunda Vahl. on the solubility of haemoglobin S and membrane stability of sickle erythrocytes. J Blood Transfus. 2010;8(4):248-54.
34. Cantillo J, Baldiris R, Jaramillo B. Evaluación de la toxicidad aguda (CL50) frente a Artemia franciscana y la actividad hemolítica de los extractos acuosos, en diclorometano y metanólico parcial de Justicia secunda (Vahl.) Scientia Et Technica. 2007;1(33).

35. *Matisia cordata*. Disponible en: <https://tropicos.org/name/3900377>
36. Caracterización Morfológica in situ del árbol y organosensorial del fruto de varias accesiones de zapote (*Matisia cordata*) en tres zonas del Guayas. [Tesis de pre grado para optar el título de Ingeniera Agrónoma] Ecuador: Universidad de Guayaquil (2016). Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/reduq/9564/1/Baja%c3%b1a%20Salar%20Grace%20Alegre%c3%ada.pdf> Fecha de acceso: 20 Abril 2021.

ANEXOS

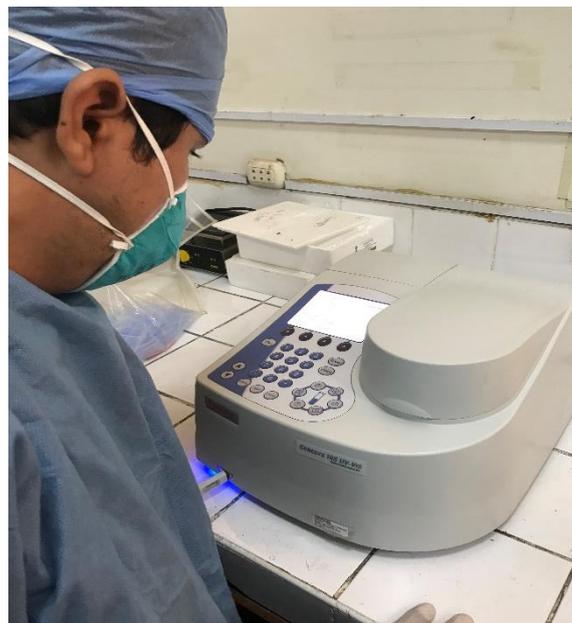
Anexo 1. Constancia de certificación de la especie vegetal

	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 014-2021-AMAZ-UNAP														
El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana														
HACE CONSTAR:														
Que, las muestras botánicas presentadas por JORGE CHÁVEZ IGLESIAS , bachiller de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana pertenece al proyecto de tesis de pre grado titulado "DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE HOJAS DE <i>Justicia spicigera</i>, <i>Eryngium foetidum</i> Y CORTEZA DE <i>Erythrina fusca</i> POR MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS" 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:														
<table border="1"><thead><tr><th>Nº</th><th>FAMILIA</th><th>ESPECIE</th></tr></thead><tbody><tr><td>01</td><td>ACANTHACEAE</td><td><i>Justicia spicigera</i> Schtdl.</td></tr><tr><td>02</td><td>APIACEAE</td><td><i>Eryngium foetidum</i> L.</td></tr><tr><td>03</td><td>FABACEAE</td><td><i>Erythrina fusca</i> Lour.</td></tr></tbody></table>	Nº	FAMILIA	ESPECIE	01	ACANTHACEAE	<i>Justicia spicigera</i> Schtdl.	02	APIACEAE	<i>Eryngium foetidum</i> L.	03	FABACEAE	<i>Erythrina fusca</i> Lour.		
Nº	FAMILIA	ESPECIE												
01	ACANTHACEAE	<i>Justicia spicigera</i> Schtdl.												
02	APIACEAE	<i>Eryngium foetidum</i> L.												
03	FABACEAE	<i>Erythrina fusca</i> Lour.												
A los siete días del mes de junio de dos mil veintiuno, se expide la presente constancia al interesado para los fines que se estime conveniente.														
Atentamente,														
 Richard A. Muananca Acostupa Coordinador Herbarium Amazonense														
Dirección Píscas/Naray – Iquitos Perú Apdo. 496		Página 1 de 1 CONSTANCIA n.º 014-2021-AMAZ-UNAP 												

Anexo 2. Proceso de extracción de alcaloides a través de equipo extractor Soxhlet



Anexo 3. Lectura en equipo espectrofotómetro para cuantificación de alcaloides



Anexo 4. Resultados del contenido de saponinas, después de hacer reaccionar la muestra problema con el reactivo Liebermann-Buchner

