



UNAP



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

TESIS

**METABOLITOS SECUNDARIOS Y ACTIVIDAD INHIBITORIA DE
HOJAS Y CORTEZA DE *Spondias mombin* Linn Y HOJAS
DE *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz
SOBRE α - GLUCOSIDASA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA**

PRESENTADO POR:

**SALLY TELLO LOPEZ
KARY JACQUELINE TUESTA RIOS**

ASESORES:

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

**IQUITOS, PERÚ
2022**

ACTA DE SUSTENTACIÓN



Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°064-PCGT-FFyB-UNAP-2022/OFICIO N°230-DINV-UNAP-2022

En el caserío de Nina Rumi, distrito de San Juan Bautista, departamento de Loreto, a los 09 días del mes de setiembre de 2022, a horas 13, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "METABOLITOS SECUNDARIOS Y ACTIVIDAD INHIBITORIA DE HOJAS Y CORTEZA DE *Spondias mombin* Linn Y HOJAS DE *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz SOBRE α - GLUCOSIDASA", aprobada con Resolución Decanal N°209-2022-FFyB-UNAP, presentada por las bachilleres: Sally Tello Lopez y Kary Jacqueline Tuesta Ríos, para optar el Título Profesional de Química Farmacéutica que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°111-2022-FFyB-UNAP, está integrada por:

Q.F. JOSÉ DANIEL TORRES TEJADA, Dr.	Presidente
ING. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra.	Miembro
Q.F. WILFREDO OSWALDO GUTIÉRREZ ALVARADO, Mtro.	Miembro

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

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 las bachilleres aptas para obtener el Título Profesional de Química Farmacéutica.

Siendo las 14:45 se dio por terminado el acto ACADÉMICO

Q.F. JOSÉ DANIEL TORRES TEJADA, Dr.
Presidente


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

Q.F. WILFREDO OSWALDO GUTIÉRREZ ALVARADO, Mtro.
Miembro


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

Ing. DORA ENITH GARCÍA DE SOTERO, Dra.
Asesora

JURADO Y ASESORES



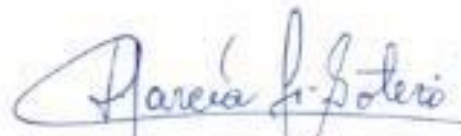
Q.F. José Daniel Torres Tejada, Dr.
CQFP N° 05857
Presidente



Ing. Reyna Gladys Cardenas Vda. de Reátegui, Dra.
CIP N° 28912
Miembro



Q.F. Wilfredo Oswaldo Gutiérrez Alvarado, Mtro.
CQFP N° 01399
Miembro



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



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

DEDICATORIA

A mi querida madre **Nancy** y mi padre **Darwin** por compartir conmigo su inmenso amor y apoyo incondicional, los mismos que me permitieron formarme con buenos modales y hábitos. Asimismo, a toda mi familia por su entera confianza en mí.

A mis amigas Tricxie, María y Liliana que las aprecio mucho.

Sally

A mis padres **William** y **Mariela**; quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me enseñaron buenos valores para ser una mejor hija, madre y persona; gracias por inculcar en mí el esfuerzo, valentía y de no temer a las adversidades porque Dios está conmigo siempre.

A mi hija **Keenssy Valentina** por su cariño y apoyo incondicional, por estar conmigo en todo momento, a pesar de nuestra distancia en horas, en este arduo camino para convertirme en una profesional. A toda mi familia por sus oraciones, consejos y palabras de aliento que hicieron de mí una mejor persona.

A una persona muy especial mi compañero **Saulo Pérez**, por extender su mano en momentos difíciles, ya que ha sabido apoyarme para continuar y nunca renunciar por el amor, paciencia y comprensión brindado día a día que han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más a tu lado.

Kary Jacqueline

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darnos la fortaleza de continuar, permitiéndonos llegar a este momento importante de nuestras vidas.

A todos los docentes y personal administrativo de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, por las enseñanzas y apoyo en los trámites correspondientes.

Al Q.F. Mario Javier de la Cruz Flores, Mtro. e Ing. Dora Enith García de Sotero, Dra. por habernos brindado la oportunidad de recurrir a sus capacidades y conocimiento científico, así como también por habernos tenido toda la paciencia del mundo para guiarnos durante todo el desarrollo de la tesis.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Página
Portada	i
Acta de sustentación	ii
Jurado y Asesores	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Índice del contenido	vi
Índice de tablas	viii
Índice de figuras	ix
Resumen	x
Abstract	xi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1. Antecedentes	3
1.2. Bases teóricas	4
1.3. Definición de términos básicos	11
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	13
2.1. Formulación de hipótesis	13
2.2. Variables y su operacionalización	13
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	15
3.1. Diseño metodológico	15
3.2. Diseño muestral	15
3.3. Procedimiento de recolección de datos	15
3.4. Procesamiento y análisis de la información	20
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	21
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	27
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	29
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	29
CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN	31
ANEXOS	35
Anexo 1. Constancia de certificación de la especie vegetal	35
Anexo 2. Esquema del ensayo de la actividad inhibitoria	37
Anexo 3. Lectura en espectrofotómetro UV-visible	36

Anexo 4. Cubetas con muestra, después de lectura en el espectrofotómetro	37
Anexo 5. Filtrado de muestra para determinación de metabolitos secundarios	38
Anexo 6. Hoja de reporte analítico	39
Anexo 7. Flujograma de la cuantificación de compuestos fenólicos	41
Anexo 8. Flujograma de la cuantificación de alcaloides	42
Anexo 9. Flujograma de la cuantificación de saponinas	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Compuestos fenólicos presentes en hojas y corteza de <i>S. mombin</i> Linn y hojas de <i>A. lanceolata</i> (Benth.) Schinz	21
Tabla 2. Contenido de alcaloides presentes en hojas por cada una de las especies vegetales	22
Tabla 3. Contenido de saponinas presentes en hojas por cada una de las especies vegetales evaluadas	22
Tabla 4. Descriptivos de los grupos de estudio – porcentaje de inhibición	24
Tabla 5. Prueba de normalidad de los datos según grupo de estudio – porcentaje de inhibición	24
Tabla 6. Prueba de homogeneidad de varianzas – porcentaje de inhibición	25
Tabla 7. Análisis de varianza de grupos de estudio - porcentaje de inhibición	25
Tabla 8. Comparaciones múltiples entre los grupos - porcentaje de inhibición	26
Tabla 9. IC ₅₀ por cada grupo de estudio	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura básica de flavonoides	7
Figura 2. Esqueleto de flavonoides, catequinas y teaflavinas	8
Figura 3. Esqueleto de antocianinas y chalconas	8
Figura 4. Porcentajes de inhibición entre los grupos de estudio por cada concentración evaluada	23

RESUMEN

Los metabolitos secundarios (MS) constituyen una fuente importante de principios activos cuyas aplicaciones farmacéuticas se atribuyen a sus funciones como analgésicos, antivirales, antibacterianos, antioxidantes, inmunoestimulantes, entre otros. Objetivo: determinar los metabolitos secundarios y la actividad inhibitoria de hojas y corteza de *Spondias mombin* Linn y hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz sobre α – glucosidasa. Metodología: el estudio de tipo correlacional, diseño experimental midió los MS por espectrofotometría y la actividad inhibitoria fue valorada a concentraciones de 100, 250, 500 y 1000 ug/mL para cada extracto, usando como control positivo acarbosa, en ambos casos se usó agua millipore como diluyente. Resultados: la corteza de *S. mombin* Linn presentó un mayor porcentaje de compuestos fenólicos, alcaloides y saponinas. En la actividad inhibitoria de *S. mombin* Linn las hojas mostraron una $IC_{50} = 898,68$ ug y la corteza una $IC_{50} = 421,92$ ug; y las hojas *A. lanceolata* (Benth.) Schinz una $IC_{50}=1500,00$ ug. En cambio, para el control positivo acarbosa la IC_{50} fue 356,80 ug. Conclusiones: acarbosa obtuvo mayor potencia de inhibición sobre la α – glucosidasa en comparación con los extractos de *S. mombin* Linn, siendo superior la inhibición del extracto de corteza frente a las hojas y el menos potente fue el extracto de hojas de *A. lanceolata* (Benth.) Schinz.

Palabras clave: Actividad inhibitoria, compuestos fenólicos, saponinas, alcaloides

ABSTRACT

Secondary metabolites (MS) constitute an important source of active ingredients for drugs and chemical products, whose pharmaceutical applications are attributed to their functions as analgesics, antivirals, antibacterials, antioxidants, immunostimulants, among others. The objective of this work was to determine the secondary metabolites and inhibitory activity of leaves and bark of *Spondias mombin* Linn and leaves of *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz on α – glucosidase. The MS were measured by spectrophotometry and the inhibitory activity was evaluated at concentrations of 100, 250, 500 and 1000 ug/mL of both extracts, using Acarbose as a positive control, in all millipore water was used as a dilution medium. The results of MS phenolic compounds, alkaloids and saponins show that bark of *S. mombin* Linn obtained majority results. In the inhibitory activity, Acarbose obtained a higher percentage of inhibition compared to the extracts of *S. mombin* Linn (leaves and bark) and the extract of *A. lanceolata* (Benth.) Schinz – leaves; likewise, *S. mombin* Linn - bark showed an $IC_{50}=421.92$ ug, compared to *S. mombin* Linn - leaves with an $IC_{50}=898.68$ ug and *A. lanceolata* (Benth.) Schinz – leaves with an $IC_{50}=1500.00$ ug In contrast, the positive control Acarbose obtained a lower $IC_{50}=356.80$ ug; which allows us to conclude that it is the one with the best inhibitory activity.

Keywords: Inhibitory activity, *Spondias mombin* Linn, *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz, α – glucosidase.

INTRODUCCIÓN

Los metabolitos secundarios (MS) de origen vegetal son compuestos biológicamente activos que a la planta le sirven para asegurando su defensa y supervivencia. Estos compuestos tienen aplicaciones en las industrias cosmética, alimentaria, farmacéutica, siendo reconocida esta última por proveer fármacos para la prevención y tratamiento de diversas enfermedades. Los MS se clasifican en tres grupos principales: terpenoides, compuestos fenólicos y alcaloides, siendo los flavonoides el subgrupo de compuestos fenólicos más grande e importante (1). Los compuestos fenólicos son una parte esencial de la dieta humana y son de considerable interés biológico debido a sus propiedades antioxidantes. Los flavonoides, representan más de la mitad de los más de ocho mil compuestos fenólicos diferentes (1).

Se estima que las especies vegetales en su conjunto producen más de 100 000 metabolitos secundarios (2). Cada año se describen alrededor de 1600 nuevas estructuras químicas obtenidas de plantas superiores, muchas de las cuales son biológicamente activas (3,4). Esto hace que el estudio de los metabolitos presentes en las plantas sea un gran desafío, requiriéndose del uso de diferentes tecnologías para su producción, caracterización e identificación (4).

La concentración de los metabolitos secundarios en las plantas depende de los suelos donde se desarrollan y de las distintas condiciones ambientales; por lo que, es importante comparar los grupos fitoquímicos presentes y la potencial actividad inhibitoria de una especie, para de esta manera validar científicamente a las diferentes especies vegetales de uso medicinal (5).

En el tratamiento de la diabetes mellitus, por ser una muy frecuente enfermedad crónica, a nivel mundial ha tenido un gran repunte la investigación de especies vegetales de posible aplicación en su tratamiento. En la región Loreto se conoce de muchas especies de uso empírico y con mínima información científica acerca de sus propiedades etnomedicinales (6). De estas especies vegetales se seleccionó a *Spondias mombin* Linn “ubos” y *Alternanthera lanceolata* (Benth.)

Schinz "lancetilla" ya que son promisorias ambos y se les asocia a la presencia de compuestos bioactivos útiles con potencial efecto farmacológico.

Son muchas las dianas farmacológicas para mitigar la hiperglicemia, y una de ellas es inhibir la α – glucosidasa, es una enzima importante para la liberación de glucosa en el intestino, la misma que se absorbe e incrementa rápidamente la glicemia. Punto crucial y de control obligado en el paciente diabético.

De acuerdo a los antecedentes encontrados de dichas especies, es que; en la presente investigación se buscó determinar los metabolitos secundarios y actividad inhibitoria de hojas y corteza de *Spondias mombin* Linn y hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz sobre α - glucosidasa.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

En el 2018 (**Ajiboye K. et al.**), evaluaron la actividad antidiabética de *Spondias mombin*, sus efectos sobre el transportador de glucosa 4 (Glut-4) y la señalización de los receptores de adiponectina en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina, a partir del sobrenadante del homogeneizado de gastrocnemio mediante ensayo ELISA. Dicha investigación determinó que a dosis bajas *S. mombin* moduló las capacidades de manejo de glucosa de las ratas diabéticas a través de un mecanismo de acción similar a la insulina; también elevó significativamente la expresión de adiponectina; el trabajo concluyó que *S. mombin* mostró actividad antidiabética (7).

En el 2017 (**Arellano J. et al.**), determinaron la presencia de compuestos fenólicos en el extracto etanólico de hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz, a partir de la evaluación de la solubilidad del extracto en solventes de polaridad creciente. Mediante tamizaje fitoquímico empleando gelatina, dio resultados positivos para compuestos fenólicos, flavonoides y glicósidos y presentó mejor solubilidad en solventes de mediana polaridad. El trabajo concluyó en que se caracterizó y propuso las estructuras de compuestos fenólicos tipo flavonas en el extracto etanólico de las hojas de *A. lanceolata* (Benth.) Schinz (8).

En el 2016 (**Piña G. et al.**), realizaron un estudio de caracterización fitoquímica de extractos obtenidos a partir de hojas y corteza de *S. mombin* (jobo) y su relación con propiedades medicinales de esta especie. El estudio determinó que en los extractos de hojas identificaron: taninos, fenoles, saponinas, cumarinas, flavonoides, alcaloides, quinonas, triterpenos, esteroides y azúcares reductores; mientras que, en extractos de corteza identificaron: taninos, fenoles, cumarinas, flavonoides, saponinas, alcaloides y azúcares reductores. El trabajo concluyó que la presencia de metabolitos secundarios se relaciona con su actividad farmacológica (9).

En el 2016 (**Ramos M. et al.**), evaluaron las características farmacognósticas de hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth) Schinz "lancetilla", mediante la metodología de Miranda Martínez Migdalia, publicado en el artículo "*Método de estudio de extractos y drogas de la Doctora Migdalia Martínez Miranda*". El tamizaje fitoquímico reveló la presencia de flavonoides, triterpenos y esteroides, compuestos fenólicos y taninos, catequinas, saponinas, compuestos grasos y principios amargos y astringentes. (10).

En el 2009 (**Adediwura F. et al.**), determinaron la actividad antidiabética de hojas de *Spondias mombin* sobre α -amilasa. La investigación según ensayo de actividad biológica, identificó una fracción inhibidora de las hojas de *S. mombin* sobre α -amilasa; además, se investigó el compuesto activo 3β -olean-12-en-3-yl (9Z)-hexadec-9-enoate. El extracto metanólico, la fracción de éter dietílico y el compuesto aislado exhibieron una actividad inhibidora enzimática significativa contra la α -amilasa de *Aspergillus oryzae*. Concluyeron por primera vez sobre la actividad inhibidora sobre α -amilasa del 3β -olean-12-en-3-yl (9Z)-hexadec-9-enoato de hojas de *S. mombin* (11).

1.2. Bases teóricas

1.2.1. Especies en estudio

Identificación taxonómica

A) *Spondias mombin* Linn "ubos"

Reino : Plantae
División : Magnoliophyta
Clase : Equisetopsida C. Agardh
Orden : Sapindales Juss. ex Bercht. & J. Presl
Familia : Anacardiaceae R. Br.
Género : *Spondias*
Especie : *Spondias mombin* Linn (12).

Sinonimias: también conocido como jobo, ciruela (en español), hogplum, yellow mombin (en inglés), tapereba y caja (en portugués) (13).

Descripción botánica: árbol de mediano tamaño, que alcanza un alto de 15 m, diámetro normal de 75-90 cm; la corteza y las hojas tienen un olor resinoso. Las ramas son horizontales o ascendentes y la copa es redondeada (14).

Distribución geográfica: el área de distribución natural, se extiende a lo largo de la costa del Pacífico (Golfo de México en el centro de México) hacia el sur a través de la América Central, incluyendo las Indias Occidentales hasta Ecuador y la Cuenca Amazónica en Brasil y Perú (15).

Usos: las frutas se consumen frescas o se utilizan para hacer jaleas y bebidas. El mesocarpio de la fruta (la parte comestible) tiene un 70 por ciento de agua y tiene un promedio de 104 cal/g. Con base a su peso en seco, tiene un 27 por ciento de carbohidratos, 0,6 por ciento de fibra cruda, 0,2 por ciento de grasas y 1,0 por ciento de ceniza. La fruta además provee de 20 mg de Ca, 49 mg de P, 1 mg de Fe, 55 mg de vitamina C por 100 g respectivamente, además de porciones significativas de vitamina A, tiamina, riboflavina y niacina (16). Los agrios vástagos jóvenes se comen a veces crudos o cocidos como vegetales (17). El chupar un trozo enorme de una raíz proveerá de suficiente agua para saciar la sed del viajero (18). Las flores son una fuente de néctar para las abejas de miel y la miel resultante es de color ámbar (19).

B) *A. lanceolata* (Benth.) Schinz “lancetilla”

Identificación taxonómica

Reino : Plantae
División : Magnoliophyta
Clase : Equisetopsida C. Agardh
Orden : Caryophyllales Juss. ex Bercht. & J. Presl
Familia : Amaranthaceae Juss.
Género : *Alternanthera* Forssk.
Especie : *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz (20).

Sinonimias: *Brandesia lanceolata* Benth, o comúnmente conocida como lancetilla, discancer grande o simplemente discancer.

Descripción botánica: hierba cespitosa con ramas ascendentes, rojizas y entrenudos delgados y largos. Tiene hojas opuestas con un tamaño de 4-10 cm de extenso y 1,5-2,2 cm de ancho y láminas lanceoladas (elípticas o lineares). Asimismo, muestra flores sésiles con periantio blanco lanceolado de alrededor de 6 cm de largo (21).

Distribución geográfica: distribuida en países de Centroamérica y Sudamérica como: Ecuador, Colombia, Perú, Guatemala, Costa Rica con preferencia por los hábitats de bosques de niebla entre 1000 y 2200 m de altitud (22).

Usos etnomédicos: usada en los andes del norte del Perú, por vía oral como relajante y antiinflamatorio (nervios, dolor de cabeza, preocupación, etc.) y en vía tópica para casos de insolación (23).

1.2.2. Metabolitos secundarios

Se denominan así a los compuestos resultantes del metabolismo de la planta que no tienen una función considerada en el mantenimiento de los procesos fisiológicos esenciales de la misma. Se les atribuye la capacidad de resguardo ante depredadores, atracción de polinizadores y simbiosis, y la defensa ante estados de estrés nocivos para la persona (24).

Existe un listado de los diferentes tipos de metabolitos y compuestos a quienes se atribuye propiedad y actividad hipoglicemiante, entre los que destacan: alcaloides, cumarinas, carbohidratos, flavonoides, glicopéptidos, sales inorgánicas, lípidos, iridoideas, péptidos y aminos, esteroides, fenoles (simples) y terpenoides (25).

A) Compuestos fenólicos

Estos metabolitos secundarios poseen funcionalidades distintas: dan coloración a flores y frutos, impregnan de lignina las paredes pecto-

celulósicas (26), se incrementan en la reproducción, defienden contra patógenos externos, protegen del estrés de la radiación UV y de los depredadores. A partir de la perspectiva química, los compuestos fenólicos constan de un anillo bencénico que tiene uno o diferentes grupos hidroxilo (26).

Entre los más característicos destacan: cumarinas, flavonoides, benzofuranos y cromenos; siendo los más característicos los flavonoides que tienen en común la estructura C₆-C₃-C₆, consistiendo de dos anillos aromáticos enlazados por un heterociclo oxigenado.

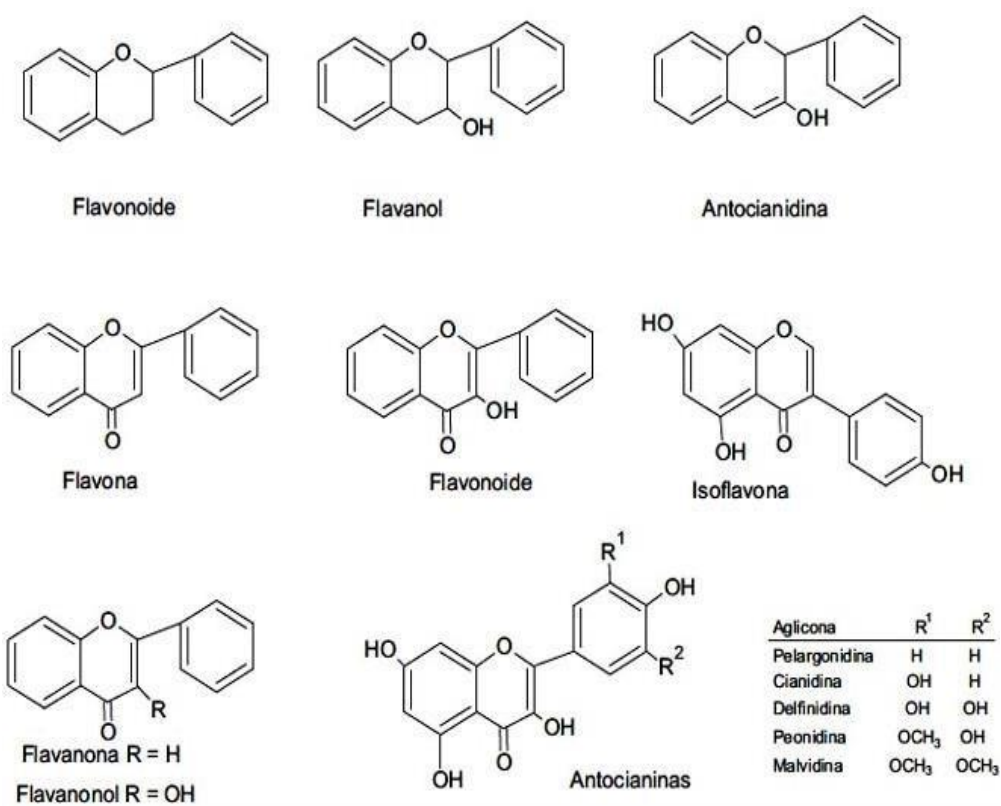


Figura 1. Estructura básica de flavonoides

Fuente: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2011000100007#fig01

Funciones de los flavonoides

Cumplen una extensa diversidad de funcionalidades ecológicas y fisiológicas en las plantas. Es bien notable el rol de los pigmentos de

antocianina como señales visuales en angiospermas para atraer polinizadores y agentes de dispersión de frutas, pero estas funciones se adquirieron tarde en la diversificación evolutiva de los flavonoides (27). Otras funciones, integran la defensa contra los efectos dañinos de la radiación UV, la intervención de las interrelaciones entre el polen y el estigma, barrera contra bacterias, hongos patógenos y herbívoros, intervención de colaboraciones entre plantas y hongos micorrícicos mutualistas y como reguladores de la actividad hormonal (27).

Clasificación de los flavonoides

Los flavonoides son una clase vasta construida fundamentalmente con anillos A y C de benzo-1-pirano-4-quinona y un anillo B, siendo subclasificados como flavonas (estructura básica), flavonoides (con un conjunto hidroxilo en la postura 3-), flavanonas (el enlace 2-3 es saturado) y catequinas (el anillo C es 1-pirano), chalconas (anillo C es abierto), antocianidinas (anillo C es 1-pirano, y los enlaces 1-2 y 3-4 son insaturados) (figura 2 y 3). Estos compuestos presentan generalmente una variedad de sustituciones por grupo metoxilos y/o hidroxilo (27).

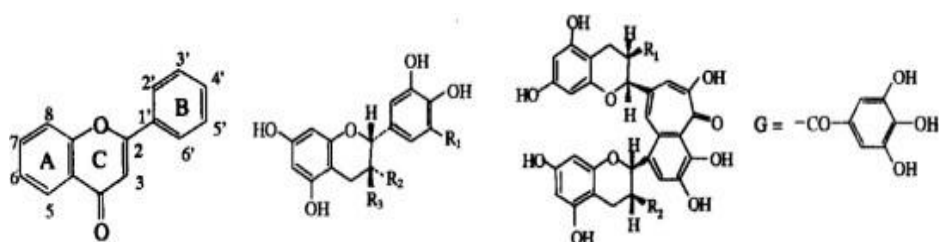


Figura 2. Esqueleto de flavonoides, catequinas y teaflavinas

Fuente: <https://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/rapidos2011/INF-2011-36.pdf>

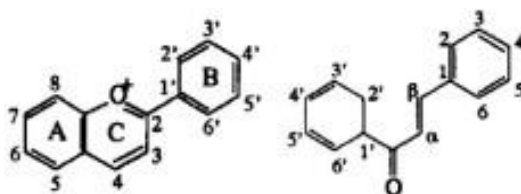


Figura 3. Esqueleto de antocianinas y chalconas

Fuente: <https://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/rapidos2011/INF-2011-36.pdf>

B) Alcaloides

Los alcaloides simbolizan un grupo de productos naturales con un gran impacto económico, médico, político y social de los seres humanos. Varios de estos agentes poseen efectos fisiológicos potentes en los sistemas de los mamíferos, así como en otras especies; y como resultado, algunos de ellos se han consolidado como moléculas terapéuticas. La atropina, la morfina, la quinina y la vincristina son representativas de una secuencia de compuestos usados para tratar un rango de patologías que van desde la malaria hasta el cáncer (28).

C) Saponinas

Las saponinas son glicósidos hidrosolubles con características tensoactivas y hemolíticas, ambos efectos atribuidos a sus propiedades estructurales de naturaleza anfílica. Dichos metabolitos además tienen la posibilidad de ejercer una extensa actividad biológica, destacándose su impacto insecticida, anti-protozoos, antiinflamatorio, leishmanicida, antitrichomonas, anti-agregante plaquetario, broncolítico, hipocolesterolemico, así como su actividad citotóxica ante algunas neoplasias. Estos informes sitúan a las saponinas del género *Sapindus* L. entre los metabolitos secundarios con elevado valor farmacológico (29).

1.2.3 Diabetes

Existen principalmente dos tipos de diabetes:

A) Diabetes mellitus tipo 1 (DM1): causada por reacción autoinmune donde el sistema inmunitario corporal ataca a las células β pancreáticas productoras de insulina. Las personas que padecen este tipo de diabetes requieren inyectarse insulina diariamente, con el fin de mantener el control de los niveles de glucosa en la sangre (30).

B) Diabetes mellitus tipo 2 (DM2): es una compleja variación metabólica cualitativa y cuantitativa, caracterizada por una mezcla de resistencia a la

insulina, que es una baja sensibilidad de uno o diversos tejidos hacia la insulina y de variación en la secreción de la misma (30).

1.2.4. Ensayos para evaluar la actividad hiperglicémica

A) Ensayos *in vivo*

a.1) Inducción de diabetes en animales; los procedimientos para la inducción de diabetes experimental son: pancreatectomía en perros, inducción con aloxano, inducción con estreptozotocina, inducción con hormonas, inducción con virus, inducción de deficiencia de insulina con anticuerpos y otros agentes diabetogénicos (31).

La inducción química de diabetes es el procedimiento más empleado. Las dosis recomendadas son: aloxano en ratón, se recomiendan 100 mg/kg peso del cuerpo (pc) vía intra-peritoneal (ip); en ratas se recomiendan 150 mg/kg pc via ip; con Estreptozotocina se recomiendan dosis de 60 mg/kg pc vía ip para ratón y rata (31).

a.2) Determinación de la actividad anti-hiperglucémico; es posible determinar en modelos animales dado que, si una muestra o producto es capaz de prevenir la hiperglucemia post-prandial, a fin de evitar que los niveles de glucosa en sangre se incrementen a concentraciones peligrosas. Básicamente consiste en inducir un estado diabético a través de un agente químico al modelo animal y aplicar a distintas concentraciones la muestra antes de recibir una carga de carbohidratos y medir los niveles de glucosa en sangre para verificar si se logró impedir un incremento de glucosa en el organismo. Para estos ensayos se utiliza normalmente la sucrosa como fuente de carbohidratos (32-34).

B) Ensayos *in vitro*

b.1) Inhibición de α – amilasa: necesita de tres recursos primordialmente; enzima (α -amilasa), sustrato (almidón) y tratamiento (muestra, producto a probar). El procedimiento más usado es el del ácido 3,5-dinitrosalicílico

(DNS), este reactivo funciona interrumpiendo la reacción enzima-sustrato, además funciona como un indicador (amarillo a naranja), el producto de la reacción se calienta a 95°C; a mayor intensidad de color mayor liberación de producto por lo tanto mayor actividad enzimática. De esta forma es posible medir la actividad de la enzima indirectamente. Es importante conceder las condiciones correctas para realizar el ensayo según los requerimientos de la enzima, por lo cual la reacción, la suspensión enzimática y la solución del sustrato se realizan en una solución amortiguadora de fosfatos de sodio 100 mM pH 6,9 (35). Los tratamientos se suspenden en la misma solución amortiguadora y correr un tratamiento control.

b.2) Inhibición de α – glucosidasa: necesita de tres recursos primordialmente; enzima (α -glucosidasa), sustrato (almidón) y tratamiento (muestra, producto a probar). En este caso como la α -glucosidasa hidroliza azúcares más simples, el sustrato requerido para la prueba debe ser algún disacárido u oligosacárido. El ensayo más usado para determinar la capacidad de alguna muestra para inhibir α -glucosidasa *in vitro*, es el procedimiento donde se utiliza p-nitrofenil α -D-glucopiranosido (pNPG) como sustrato. Al ser un sustrato cromogénico, la actividad de la enzima se prueba presentándose una coloración amarilla (p-nitrofenol) en la mezcla de reacción, a mayor coloración mayor actividad enzimática (36).

Las concentraciones de las muestras probadas y los porcentajes de inhibición, se analizan en un paquete estadístico, a fin de determinar la concentración inhibitoria 50 (IC₅₀) (36).

1.3. Definición de términos básicos

Metabolito secundario: compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, por lo que su ausencia no es peligrosa para el organismo, a diferencia de los metabolitos primarios (37).

Concentración inhibitoria 50 (IC₅₀): es una medida cuantitativa que indica la cantidad de una sustancia en particular (por ejemplo, un fármaco) que se necesita para inhibir, in vitro, un proceso biológico o componente biológico determinado en un 50 % (38).

Alfa glucosidasa: conocida como α -1,4-glucosidasa, es una enzima codificada por el gen GAA esencial para el catabolismo de glucógeno a glucosa en los lisosomas (39).

Acarbosa: es un fármaco inhibidor enzimático de las alfa-glucosidasas intestinales, que se emplea, por su efecto retardante de la absorción de glucosa, como elemento coadyuvante en el tratamiento de la diabetes mellitus (40).

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1. Formulación de hipótesis

Hi: De los metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos de hojas y corteza de *S. mombin* Linn y hojas de *A. lanceolata* (Benth.) Schinz al menos uno presenta actividad inhibitoria sobre α -glucosidasa.

2.2. Variables y su operacionalización

Variable independiente

Metabolitos secundarios: sustancias químicas producto del metabolismo de plantas superiores, como son polifenoles totales, flavonoides, antocianinas, catequinas, alcaloides, saponinas presentes en los órganos del vegetal.

Indicador: polifenoles totales, flavonoides, antocianinas, catequinas, alcaloides, saponinas.

Índice: mg/100g.

Variable dependiente

Actividad inhibitoria: acción de disminuir los niveles de glucosa en el lumen intestinal y por ende en el plasma, por la administración de sustancias con capacidad inhibitoria.

Indicador: capacidad de inhibición.

Índice: %, ug/mL.

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

Variable Independiente	Definición operacional	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categorías	Valores de las categorías	Medio de verificación
Metabolitos secundarios	Producto con diversos compuestos químicos, extraído por maceración de las especies vegetales en estudio, 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
Variable dependiente	Definición operacional	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categorías	Valores de las categorías	Medio de verificación
Actividad inhibitoria	Proceso que permite la evaluación <i>in vitro</i> de especies terapéuticos potenciales, sobre la hiperglicemia.	Cuantitativa	% de inhibición ug/mL	Razón	Con actividad Sin actividad	>50% <50%	Hoja de reporte analítico

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Diseño metodológico

Tipo de estudio: 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.

Diseño: analítico, porque se buscó correlación de las diferentes concentraciones con la actividad inhibitoria. El área de estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, ubicada en calle Pevas 5ta cuadra de la ciudad de Iquitos, capital del Departamento de Loreto.

3.2 Diseño muestral

La población de estudio estuvo constituida por aproximadamente dos kilogramos de los órganos (hojas y corteza) de dos especies vegetales, muestreadas por conveniencia en el centro poblado de Quistococha ($3^{\circ}49'8''$ S $73^{\circ}19'53''$ O), cuidando de seleccionar el material vegetal que esté en buen estado de conservación, siendo el tamaño de la muestra seca de estudio 7 gramos de hojas y corteza de *S. mombin* Linn y hojas de *A. lanceolata* (Benth.) Schinz.

3.3. Procedimiento de recolección de datos

A) Obtención de la muestra vegetal

- a.1) Recolecta de especies vegetales: utilizando las herramientas adecuadas como tijeras podadoras, se cortó suficiente cantidad hojas y corteza de las especies vegetales a ser estudiadas y se depositaron en sobres de manila debidamente rotulados hasta su llegada al laboratorio.

- a.2) Preparación y limpieza de muestras vegetales: una vez que las muestras del material vegetal llegaron al laboratorio, se limpiaron las hojas, cortezas y se cortaron en pequeños fragmentos. Al mismo tiempo se realizó una selección de hojas y cortezas en buen estado de cada una de las especies vegetales para su identificación y certificación.
- a.3) Certificación de la especie vegetal: se realizó en el Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de Amazonia Peruana – UNAP entidad que emitió la constancia con su respectivo código de identificación de la especie vegetal (Anexo 1).
- a.4) 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) Obtención de extractos

Se pesó 7 g de material vegetal, se agregó 100mL de etanol 96°. Después, se sometió a maceración por 7 días. Posteriormente, el extracto macerado se filtró en una bomba al vacío; luego se concentró en equipo rota vapor a 40° C a 40 rpm. El extracto obtenido en el rotavapor, se colocó en una estufa a 40°C hasta sequedad y posteriormente refrigerado para su uso en los respectivos ensayos (41).

C) Preparación de soluciones

- c.1) Solución α -Glucosidasa 0,24U/mL
100 UI (unidades internacionales) de la enzima (Sigma Aldrich G5003-100UN) se disolvió en 1 mL de buffer fosfato pH=6,5. De esta disolución se extrajo 5 μ l y se agregó a la misma 1995 mL de buffer fosfato para obtener la concentración final. Se llevó a refrigeración a 4 °C.

c.2) Solución p-nitrofenil- α -D-glucopiranosido 5 mg/mL 0,1M

Se pesó 5 mg de p-nitrofenil- α -D-glucopiranosido (Sigma Aldrich N 1377-1G) y 1 mL de agua millipore. En un vial se mezcló por inversión suavemente hasta homogeneizar y se llevó a refrigeración.

c.3) Solución Acarbosa 1000 μ g/mL

Se pesó 1 mg de Acarbosa (Sigma Aldrich A8980-1G), se adicionó 1 mL de agua millipore. Luego, en un vial se mezcló por inversión y diluyó a las concentraciones de 100 μ g/ mL, 250 μ g/mL y 500 μ g/ mL. Se almacenó a 4°C.

c.4) Solución de Na₂CO₃ 0,2 M

En una probeta 50 mL se mezcló 1,05 g. del reactivo de Na₂CO₃, luego se enrazó el total del volumen con agua millipore.

c.5) Solución Buffer fosfato pH=6,5

En una fiola de 500 ml se pesó 7,8 g de reactivo y se enrazó el total de volumen con agua millipore. Se adicionó HCl para ajustar el pH=6,5.

c.6) Solución muestra 1000 μ g/ mL

En un vial se pesó 1 mg de extracto y se diluyó en 1 mL de agua millipore, a partir de esta solución madre, se prepararon las soluciones de trabajo a concentraciones de 100 μ g/ mL, 250 μ g/ mL y 500 μ g/ mL.

D) Actividad inhibitoria

Se prepararon 12 tubos de ensayo de 100 x 10 mm previamente autoclavados y rotulados. Por cada especie vegetal se utilizaron 4 tubos de ensayo y a cada uno de ellos se colocó diferentes volúmenes de solución buffer fosfato pH=6,5 (375 μ l, 350 μ l, 325 μ l y 300 μ l respectivamente); se adicionó 125 μ L de solución sustrato p-Nitrofenil α -D-glucopiranosido a 5 mg/mL 0,1M; 50 μ L de especie vegetal (inhibidor colocado sólo al tubo 3 y tubo 4) a concentraciones de 100 μ g/mL, 250 μ g/mL, 500 μ g/mL y 1000 μ g/mL. Después, se pre incubaron en baño maría a 37°C por un tiempo de 5 minutos. Posteriormente,

se adicionó 25 μL 0,24 U/mL de la solución enzimática, luego se incubaron en baño maría por 15 minutos a 37°C, esta mezcla se agitó suavemente. Finalmente, se adicionó 500 μL a 0,2 M de solución Na_2CO_3 y se homogeneizó.

Luego, esta solución se llevó al espectrofotómetro (GENESYS S10) para realizar la lectura a una absorbancia a 400 nm. El blanco de los estándares de la solución hay ausencia de solución enzimática y el control positivo presenta acarbosa (ver anexo 2).

El porcentaje de inhibición se calculó de acuerdo a los datos obtenidos en la Hoja de reporte analítico (ver anexo 6) y llevó con la siguiente formula:

$$\left[1 - \left(\frac{B}{A}\right)\right] \times 100\%$$

Dónde: A es la absorbancia en ausencia de muestra y B es la absorbancia en presencia de la muestra.

Los valores del porcentaje de inhibición de α -glucosidasa se utilizaron para calcular el IC_{50} de los extractos. El valor de IC_{50} corresponde a la cantidad de extracto utilizado para inhibir el 50% de la enzima α -glucosidasa.

E) Determinación de metabolitos secundarios

Quantificación de compuestos fenólicos: se utilizaron las técnicas espectrofotométricas de UV/vis descritos por Valls *et al.* (42), proceso descrito en el Anexo 7.

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.

e.1 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 (42) (ver Anexo 7).

e.2 Determinación de antocianinas y flavonoides totales: Del extracto obtenido, se efectuó la determinación de antocianinas a una absorbancia de 535 nm y para los flavonoides se realizó la lectura a 374 nm (42) (ver Anexo 7).

e.3 Determinación de catequinas y proantocianidoles: se aplicó el ensayo de la vainillina, se mezclaron 0,5 mL 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 determinan 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 (42) (ver Anexo 7).

e.4 Análisis de alcaloides: Los materiales vegetales (5g) micropulverizadas se sometieron a extracción continua con metanol durante 24 H en equipo soxhlet. El extracto se filtró y se evaporó el metanol en un evaporador rotatorio al vacío a una temperatura de 45 °C a sequedad. 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. 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 extraerá con 1, 2, 3, y 4 mL de cloroformo por agitación vigorosa. Los extractos se recogieron en un matraz aforado de 10 mL. La absorbancia del complejo en cloroformo se midió a 470 nm (43) (ver anexo 8).

e.5 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 a 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 (44) (ver anexo 9).

3.4. Procesamiento y análisis de la información

Los datos obtenidos fueron presentados en gráfico y tablas. Luego, se aplicó análisis de varianza para conocer si existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio. Posterior a ello, se aplicó la prueba estadística HSD Tukey para comparaciones múltiples entre los grupos - porcentaje de inhibición.

3.5. Aspectos éticos

Las especies vegetales utilizadas en la presente investigación, no causaron ninguna alteración en el ecosistema, ni se atentó contra la especie, ya que son plantas de rápida reproducción y regeneración de tejidos y solo se utilizó en cantidades mínimas (02 kg) por cada muestra.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1 Metabolitos secundarios

Tabla 1. Compuestos fenólicos presentes en hojas y corteza de *S. mombin* Linn y hojas de *A. lanceolata* (Benth.) Schinz

Especies en estudio	Órgano vegetal	Fenoles Totales mg/100g	Flavonoides mg/100g	Antocianinas mg/100g	Catequinas mg/100g
<i>S. mombin</i> Linn	hojas.	29898, 67	18,807	4,303	0,004
<i>S. mombin</i> Linn	corteza	50263,19	34,622	14,993	0,005
<i>A. lanceolata</i> (Benth.) Schinz	hojas	25369, 57	15,018	6,930	0,004

En la tabla 1 se muestra los valores obtenidos de compuestos fenólicos presentes en hojas y corteza de *S. mombin* Linn y hojas de *A. lanceolata* (Benth.) Schinz; siendo la corteza de *S. mombin* Linn la que presentó la mayor concentración.

Tabla 2. Contenido de alcaloides presentes en hojas por cada una de las especies vegetales

Especie vegetal	Órgano vegetal	Alcaloides mg/100g
<i>S. mombin</i> Linn.	hojas	43,68
<i>S. mombin</i> Linn	corteza	47,40
<i>A. lanceolata</i> (Benth.) Schinz	hojas	14,24

En la tabla 2, donde se muestra que la corteza de *S. mombin* Linn presentó el mayor contenido de alcaloides, seguido de las hojas y finalmente con el menor contenido las hojas de *A. lanceolata* (Benth.) Schinz.

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

Especie vegetal	Órgano vegetal	Saponinas mg/100g
<i>S. mombin</i> Linn.	hojas	118,97
<i>S. mombin</i> Linn.	corteza	225,66
<i>A. lanceolata</i> (Benth.) Schinz.	hojas	119,74

En la tabla 3 se observa que la corteza de *S. mombin* Linn obtuvo el mayor valor en contenido de saponinas.

4.2 Actividad inhibitoria

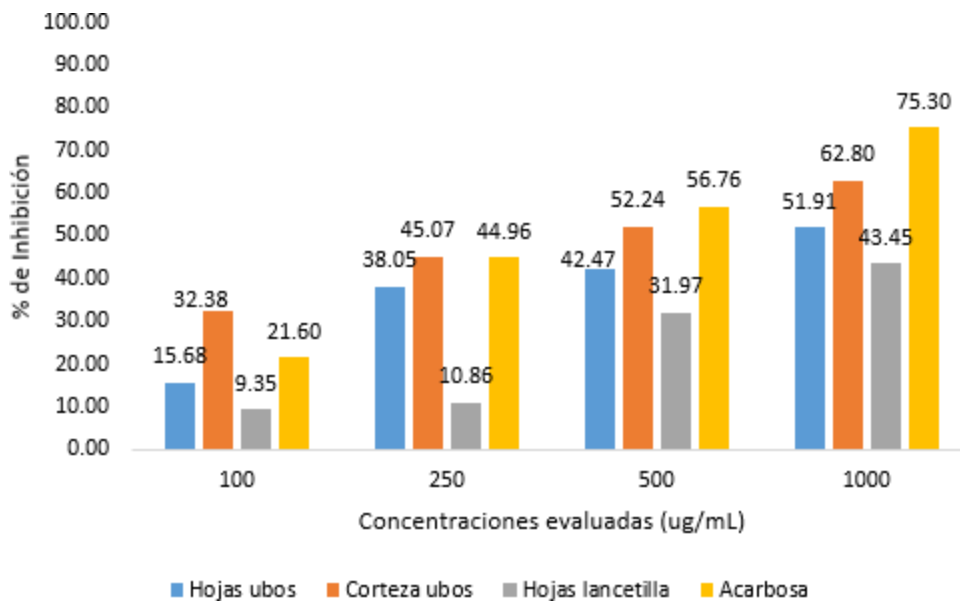


Figura 4. Porcentajes de inhibición entre los grupos de estudio por cada concentración evaluada

En la figura 4, se muestran las diferentes concentraciones evaluadas tanto del control positivo (acarbosa) como de las sustancias experimentales; las mismas

que ninguna supero el poder inhibitorio del control. Sin embargo, el extracto de la corteza de *S. mombin* Linn “ubos” presentó el mayor % de inhibición.

Tabla 4. Descriptivos de los grupos de estudio – porcentaje de inhibición

Grupos de estudio	Media	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
			Límite inferior	Límite superior		
<i>S. mombin</i> Linn – hojas	37,03	15,36	12,58	61,47	15,68	51,91
<i>S. mombin</i> Linn – corteza	48,12	12,77	27,80	68,45	32,38	62,80
<i>A. lanceolata</i> (Benth.) Schinz – hojas	23,91	16,62	-2,55	50,36	9,35	43,45
Acarbosa	49,66	22,49	13,87	85,44	21,60	75,30

Fuente: elaboración propia

En tabla 4, según los resultados de los descriptivos de estudio, se observa para *A. lanceolata* (Benth.) Schinz – hojas una media menor en porcentaje de inhibición; mientras que Acarbosa (control positivo) obtuvo mayor media en porcentaje de inhibición y desviación estándar.

Tabla 5. Prueba de normalidad de los datos según grupo de estudio – porcentaje de inhibición

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Porcentaje Inhibición	0,969	16	0,820

Fuente: elaboración propia

En la tabla 5, se observa que todos los grupos presentan normalidad, luego de comparar el valor de la significancia con el valor de $\alpha = 0,05$ (5%) aplicando la

prueba de Shapiro – Wilk. El análisis de normalidad nos permite realizar pruebas paramétricas.

Tabla 6. Prueba de homogeneidad de varianzas – porcentaje de inhibición

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
0,527	3	12	0,672

Fuente: elaboración propia

En la tabla 6, se muestra los resultados de la prueba de homogeneidad de varianzas, determinándose que dichas muestras presentan varianzas homogéneas con un valor sig = 0,672.

Tabla 7. Análisis de varianza de grupos de estudio - porcentaje de inhibición

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1706,336	3	568,779	1,926	0,179
Dentro de grupos	3543,742	12	295,312		
Total	5250,078	15			

Fuente: elaboración propia

En la tabla 7, se determinó que sig.=0,179 siendo mayor que $\alpha=0,05$. Se concluye que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio según el porcentaje de inhibición.

Tabla 8. Comparaciones múltiples entre los grupos - porcentaje de inhibición

HSD Tukey

(I) Grupo de estudio	(J) Grupo de estudio	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
<i>S. mombin</i> Linn – hojas	<i>S. mombin</i> Linn – corteza	-11,095	12,151	0,798	-47,171	24,981
	<i>A. lanceolata</i> (Benth.) Schinz – hojas	13,120	12,151	0,708	-22,956	49,196
	Acarbosa	-12,628	12,151	0,731	-48,704	23,445
<i>S. mombin</i> Linn - corteza	<i>S. mombin</i> Linn – hojas	11,095	12,151	0,798	-24,981	47,171
	<i>A. lanceolata</i> (Benth.) Schinz – hojas	24,215	12,151	0,244	-11,861	60,291
	Acarbosa	-1,533	12,151	0,999	-37,609	34,544
<i>A. lanceolata</i> (Benth.) Schinz - hojas	<i>S. mombin</i> Linn – hojas	-13,120	12,151	0,708	-49,196	22,956
	<i>S. mombin</i> Linn – corteza	-24,215	12,151	0,244	-60,291	11,861
	Acarbosa	-25,748	12,151	0,202	-61,824	10,329
Acarbosa	<i>S. mombin</i> Linn – hojas	12,628	12,151	0,731	-23,449	48,704
	<i>S. mombin</i> Linn – corteza	1,533	12,151	0,999	-34,544	37,609
	<i>A. lanceolata</i> (Benth.) Schinz – hojas	25,748	12,151	0,202	-10,329	61,824

La prueba HSD Tukey (prueba que se aplica cuando las varianzas de los grupos son homogéneas) encontrándose que el grupo *S. mombin* Linn - hojas produce diferente porcentaje de inhibición respecto a *S. mombin* Linn - corteza, *A. lanceolata* (Benth.) Schinz - hojas y Acarbosa con valores de sig = 0,798; sig = 0,708; sig= 0,731 respectivamente; el grupo *S. mombin* Linn - corteza produce diferente porcentaje de inhibición respecto *S. mombin* Linn – hojas; *A. lanceolata* (Benth.) Schinz – hojas y Acarbosa con valores de sig = 0,798; sig= 0,244 y sig = 0,999. Asimismo, el grupo *A. lanceolata* (Benth.) Schinz - hojas

produce diferente porcentaje de inhibición respecto a *S. mombin* Linn – hojas y corteza; Acarbosa con sig = 0,708; sig= 0,244 y sig= 0,202. En conclusión, el producto Acarbosa produce porcentaje de inhibición diferente al grupo *S. mombin* Linn – hojas, corteza y *A. lanceolata* (Benth.) Schinz - hojas.

Tabla 9. IC₅₀ por cada grupo de estudio

Grupos de estudio	Órgano vegetal	IC ₅₀
<i>S. mombin</i> Linn	hojas	898,68 ug
<i>S. mombin</i> Linn	corteza	421,92 ug
<i>A. lanceolata</i> (Benth.) Schinz	hojas	1500,00 ug
Acarbosa		356,80 ug

La Tabla 9 evidencia que *S. mombin* Linn - corteza mostró un IC₅₀=421,92 ug, lo que nos indica que a esta concentración produce actividad inhibitoria sobre la α -glucosidasa, en comparación con *S. mombin* Linn - hojas con un IC₅₀=898,68 ug y *A. lanceolata* (Benth.) Schinz – hojas con un IC₅₀=1500,00 ug. En cambio, el control positivo Acarbosa obtuvo menor IC₅₀=356,80 ug lo que demuestra que es el de mejor actividad inhibitoria.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

Uno de los aspectos más interesantes de la investigación de fármacos es conocer su composición química general mediante métodos analíticos químicos. Los experimentos con plantas comienzan con la extracción de metabolitos que se disuelven en el citoplasma de las células vegetales o forman sales que se adhieren a las células (45).

El género *Spondias* presenta una diversidad de especies, las mismas que son utilizadas de forma etnomedicinal para el tratamiento de diabetes. La cuantificación de compuestos fenólicos, alcaloides y saponinas obtenidas en el presente trabajo para la especie vegetal *S. mombin* Linn se muestran en las Tablas 1, 2 y 3 respectivamente. Todos estos valores en metabolitos secundarios referidas a *S. mombin*, guardan relación con la actividad inhibitoria obtenida, ya que a 1000 ug/mL presentó un **62,80%** para corteza y un **51,91%** para hojas. Estos resultados guardan relación con el trabajo de **Ajiboye et al.** (7) quienes determinaron que a dosis bajas *S. mombin* moduló las capacidades de manipulación de glucosa de las ratas diabéticas y que la actividad inhibitoria de *S. mombin* actúa a través de un mecanismo similar a la insulina. También guarda relación con el estudio de **Piña et al.** (9) quienes identificaron en las hojas de *S. mombin* taninos, fenoles, saponinas, cumarinas, flavonoides, alcaloides, quinonas, triterpenos, esteroides y azúcares reductores; mientras que en los extractos de corteza identificaron: taninos, fenoles, cumarinas, flavonoides, saponinas, alcaloides y azúcares reductores, demostrando que la presencia de metabolitos secundarios se relaciona con su actividad farmacológica.

Asimismo, el presente trabajo concuerda con los resultados del estudio de **Adediwura et al.** quienes identificaron una fracción inhibitoria de las hojas de *S. mombin* sobre α -amilasa; además, demostraron por primera vez la actividad inhibitoria sobre α -amilasa del 3- β -olean-12-en-3-yl (9Z)-hexadec-9-enoato (11).

Referente a la especie vegetal *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz, nuestros resultados guardan relación con la investigación de **Arellano et al.** (8) quienes por tamizaje fitoquímico detectaron la presencia de compuestos

fenólicos, flavonoides y glicósidos en el extracto etanólico de las hojas. Además, concuerda con los resultados de **Ramos et al.** (10) quienes revelaron la presencia de flavonoides, triterpenos y esteroides, compuestos fenólicos y taninos, catequinas, saponinas, compuestos grasos y principios amargos y astringentes en las hojas.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

1. La valoración obtenida de los metabolitos secundarios presentes en hojas y corteza de *S. mombin* Linn y hojas de *A. lanceolata* (Benth.) Schinz, evidencian que la corteza de *S. mombin* Linn obtuvo las mayores concentraciones.
2. En la actividad inhibitoria, ningún extracto superó al control positivo acarbosa; sin embargo, de las sustancias en experimentación, el extracto de la corteza de *S. mombin* Linn presentó el mayor porcentaje de inhibición seguido del extracto de las hojas de la misma especie y finalmente del extracto de las hojas de *A. lanceolata* (Benth.) Schinz.
3. La corteza de *S. mombin* Linn mostró un $IC_{50}=421,92$ ug, frente a la $IC_{50}=356,80$ ug de acarbosa (control positivo); lo que indica que a esta concentración siendo una mezcla de sustancias produce actividad inhibitoria sobre la α -glucosidasa bastante cercana a la actividad inhibitoria de la acarbosa que es una sustancia pura. Una menor inhibición presentó las hojas de *S. mombin* Linn ($IC_{50}=898,68$ ug) y las hojas de *A. lanceolata* (Benth.) Schinz ($IC_{50}=1500,00$ ug).

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

Que, se efectúen estudios de los otros órganos de la especie estudiada a fin de determinar su potencial inhibitorio sobre la alfa glucosidasa.

Es necesario se realicen estudios de toxicidad de la especie vegetal *S. mombin* Linn, para determinar la seguridad e inocuidad de los extractos.

Que se continúe con el presente estudio en modelos *in vivo*, a fin de poder establecer el potencial farmacológico para el tratamiento de la diabetes.

Que se continúe con el fraccionamiento y aislamiento de los compuestos presentes en el extracto etanólico de la corteza de *S. mombin* Linn “ubos” y que se evalué la actividad inhibitoria de los mismos sobre la α -glucosidasa.

CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 2006. 99:191–203.
2. Ritu Bhalla KN&SS. Metabolomics and its role in understanding cellular responses in plants. *Springer link.* 2005. 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. 48(1-2):155-171.
5. Nathan C. 2002. Points of control in inflammation. *Nature* 420: 846 - 852.
6. Mejía K., Rengifo E. (1995). Plantas medicinales de uso popular en la amazonía peruana. Editorial Tarea Asociación Gráfica Educativa. IAP/AECI. Lima, Perú. pág. 7.
7. Ajiboye Kolawole , Ogunsola Abimbola O , Agulefo Somto D , Ajayi Etseoghena R , Ajiboye Oyebimpe F and Oluwole Francis S. *Spondias mombin* modulates glucose handling mechanisms in type I diabetic Wistar rats. *Int. J. Adv. Res.* 2018. 6(1):1334-1340.
8. Arellano Quintanilla JM, Ariza Alva AA, Ávila Rodríguez MA, Campbell Sánchez CM, Quispe Mallqui LR, Luna Minuche CI, et al. Caracterización de compuestos fenólicos presentes en el extracto etanólico de hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz, lancetilla. *Rev Peru Med Integrativa.*2017. 2(3).
9. Piña GR, Laurel CL, Ortiz SY, et al. Caracterización fitoquímica de extractos obtenidos a partir de hojas y corteza de *Spondias mombin* (jobo), su relación con las propiedades medicinales de esta especie. *Mul Med.* 2016. 20(2):236-245.
10. Ramos Carrión, Marjory Rocio; Solórzano Ramos, Roosevelt Franklin. Características farmacognósticas de las hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth) Schinz "lancetilla" proveniente del distrito de Urcay provincia de Sánchez Carrión región La Libertad. (2016) p. 34. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/porta/resource/pt/biblio-915992>

11. Adediwura Fred-Jaiyesimi, Abo Kio, Wilkins Richard. α -Amylase inhibitory effect of 3 β -olean-12-en-3-yl (9Z)-hexadec-9-enoate isolated from *Spondias mombin* leaf. Food Chemistry. 2009. 116(1):285-288. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814609002350>.
12. *Spondias mombin*. Disponible en: <https://www.tropicos.org/name/1300270>
13. Food and Agriculture Organization, Forestry Department. 1986. Food and fruit-bearing forest species: 3. Examples from Latin America. Forestry Paper 44/3. Rome: Forestry Department, Food and Agriculture Organization of the United Nations. p. 308.
14. Froes, R.L. 1959. Informações sobre algumas plantas econômicas do planalto Amazônico. Bol. Téc. 35. Belém, Para, Brasil: Instituto Agronômico do Norte. p. 113.
15. Mendoza, Rodolfo B. 1979. Frutales nativos y silvestres de Panamá. Ciudad de Panamá, Panamá: Universidad de Panamá. p. 171.
16. Little, Elbert L., Jr.; Wadsworth, Frank H. 1964. Common trees of Puerto Rico and the Virgin Islands. Agric. Handb. 249. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture. 548 p.
17. Liogier, Alain Henri. 1978. Árboles dominicanos. Santo Domingo, República Dominicana: Academia de Ciencias de la República Dominicana. p. 220.
18. Chapman, Colin A.; Chapman, Lauren J. 1990. Density and growth rate of some tropical dry forest trees: comparisons between successional forest types. Bulletin of the Torrey Botanical Club. 117(3): 226-231.
19. *A. lanceolata* (Benth.) Schinz. Disponible en: <https://www.tropicos.org/name/1100068>
20. Hundiwale J, Patil A, Kulkarni M, Patil D, Ravindra M. A current update on phytopharmacology of the genus *Alternanthera*. J Pharm Res. 5(4).
21. Blair S, Madrigal B. Plantas antimaláricas de Tumaco: costa pacífica colombiana. Universidad de Antioquia; p. 4.
22. Monigatti M, Bussmann R, Téllez C, Vega C. Uso de plantas medicinales en los andes norte del Perú. Conocimientos en etnobotánica de la población de Uchumarca, Púsac y San Vicente de Paúl. Trujillo: Graficart; p. 3.
23. Robert, M.L., Reyes, J., & Loyola, V.M. (1991). Biosíntesis y bioconversión de metabolitos secundarios por células cultivadas in vitro. Cultivo de Tejidos en la Agricultura. (Ed. por WM Roca y LA Mroginski). CIAT. Cali, 211-238.

24. Marles, R.J., & Farnsworth, N.R. (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2(2): 137-189.
25. Valls J, Lampreave M, Nadal M, Arola L. Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Rev. Alimentación, Equipos. y Tecnología*. 2013. p.1-6.
26. Shirley, B.W. (1996) Flavonoid biosynthesis: “new” functions for an “old” pathway, *Trend Plant Sci*. 1:377-382.
27. 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.
28. Mena L, Tamargo B, Salas E, Plaza L, Blanco Y, Otero A, et al. Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo). *Rev. Plant. Med*. 2015; 20, 1, 106-116.
29. Ascaso, J.F. Diabetes mellitus tipo 2: nuevos tratamientos. *Medicina Clínica*. 2014. 143(03):117-123.
30. Radenkovi, M., Stojanovi, M., & Prostran, M. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. 2016. 78:13-31.
31. Hussin, F.R.M., Vitor, R.J.S., Joaquin, J.A.O., Clerigo, M.M., & Paano, A.M. C. Anti-hyperglycemic effects of aqueous *Lenzites betulina* extracts from the Philippines on the blood glucose levels of the ICR mice (*Mus musculus*). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2016. 6(2):155-158.
32. Juárez-Reyes, K., Brindis, F., Medina-Campos, O.N., Pedraza-Chaverri, J., Bye, R., Linares, E. et al. Hypoglycemic, antihyperglycemic, and antioxidant effects of the edible plant *Anoda cristata*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015. 161:36-45.
33. Ovalle-Magallanes, B., Medina-Campos, O.N., Pedraza-Chaverri, J., & Mata, R. Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of phytopreparations and limonoids from *Swietenia humilis*. *Phytochemistry*. 2015. 110:111-119.
34. Sui, X., Zhang, Y., & Zhou, W. *In vitro* and in silico studies of the inhibition activity of anthocyanins against porcine pancreatic α -amylase. *Journal of Functional Foods*. 2016. 21:50-57.

35. Majouli, K., Hlila, M.B., Hamdi, A., Flamini, G., Jannet, H. Ben *et al.* Antioxidant activity and α -glucosidase inhibition by essential oils from *Hertia cheirifolia* (L.). *Industrial Crops & Products*. 2015. 82:23-28.
36. Ascaso, J.F. Diabetes mellitus tipo 2: nuevos tratamientos. *Medicina Clínica*. 2014. 143(03): 117-123. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcli.2013.05.041>
37. Metabolitos secundarios. Disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/Metabolitos_secundarios_de_las_plantas
38. IC₅₀. Concepto. Disponible en: <https://en.wikipedia.org/wiki/IC50#:~:text=IC50%20is%20a%20quantitative,c ell%2C%20cell%20receptor%20or%20microorganism.>
39. Definición Alfa glucosidasa. Disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/Alfa_glucosidasa_%C3%A1cida
40. Acarbosa. Diccionario médico. Disponible en: <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/acarbosa>
41. Cruz Gallegos, José Adrián. Relación flavonoides totales-actividad inhibitoria (*in vitro* por difusión de glucosa) en extractos de *Columbrina elliptica*. [Tesis de grado para optar el título profesional de Ingeniero en Alimentos]. México: Universidad Tecnológica de la Mixteca (2012). Disponible en: http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/11596.pdf Fecha de acceso: 30 setiembre 2021.
42. 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.
43. 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.
44. Lozano M, Ticona E, Carrasco C, Flore G, Almanza G. Cuantificación de saponinas en residuos de quinua real *Chenopodium quino*. Willd. *Rev. Boliviana de Química*. 2012;29(2):128-135.
45. Miranda, M. Desarrollo de fitomedicamentos. Perú. Universidad Nacional de Trujillo. 2003. 32-38.

ANEXOS

Anexo 1. Constancia de certificación de la especie vegetal



**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 005-2022-AMAZ-UNAP

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

HACE CONSTAR:

Que, las muestras botánicas presentada por **SALLY TELLO LÓPEZ** y **KARY JACQUELINE TUESTA RÍOS** bachilleres de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, pertenecen a la tesis de pre grado titulado **"METABOLITOS SECUNDARIOS Y ACTIVIDAD INHIBITORIA DE HOJAS Y CORTEZA DE *Spondias mombin* L. Y HOJAS DE *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz SOBRE α -GLUCOSIDASA"**. Estas muestras han sido **DETERMINADAS** en este Centro de Investigación y Enseñanza **Herbarium Amazonense – AMAZ – CIRNA - UNAP** como se indica a continuación:

N°	Familia	Especie	Autor
1	ANACARDIACEAE	<i>Spondias mombin</i>	L.
2	AMARANTHACEAE	<i>Alternanthera lanceolata</i>	(Benth.) Schinz

Determinador: Ing. Juan Celidonio Ruiz Macedo

A los tres días del mes de marzo de dos mil veintidós, se expide la presente constancia a las interesadas para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,



Richard J. Huaranca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense

Dirección Pevay/Nanay – Iquitos Perú
Apdo. 496

Página 1 de 1

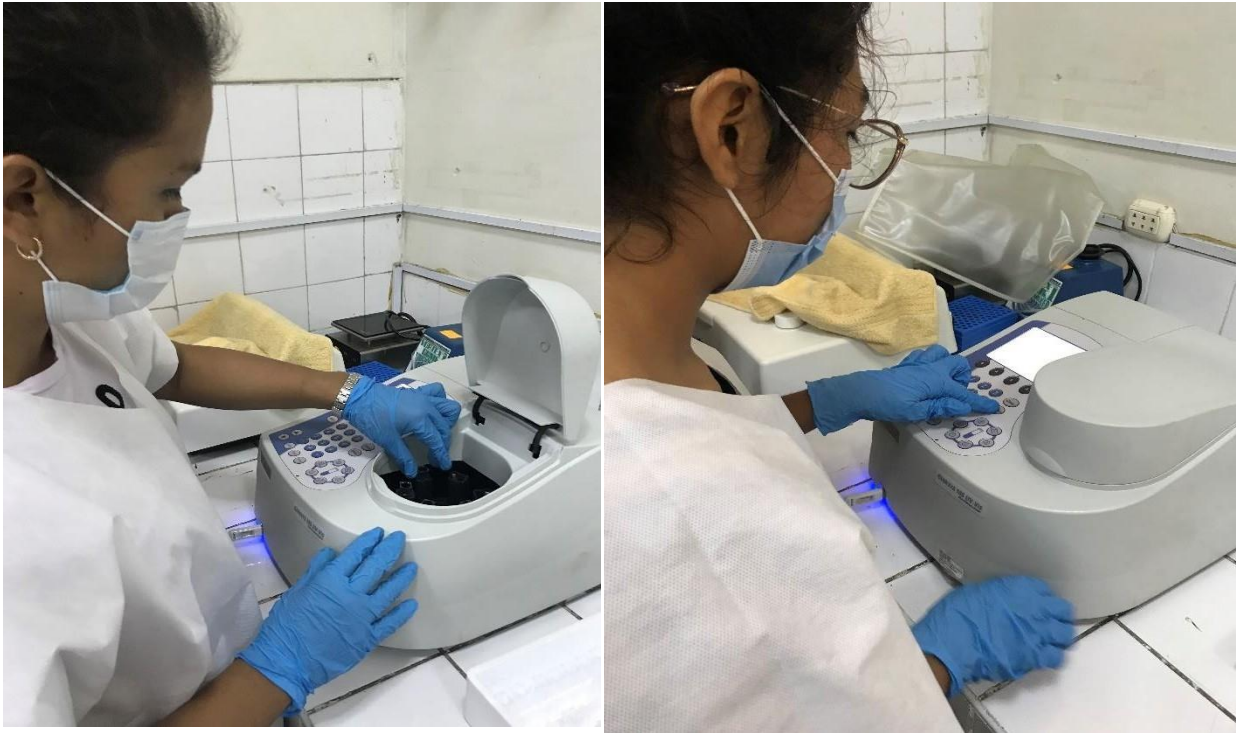
CONSTANCIA n.º 005-2022-AMAZ-UNAP



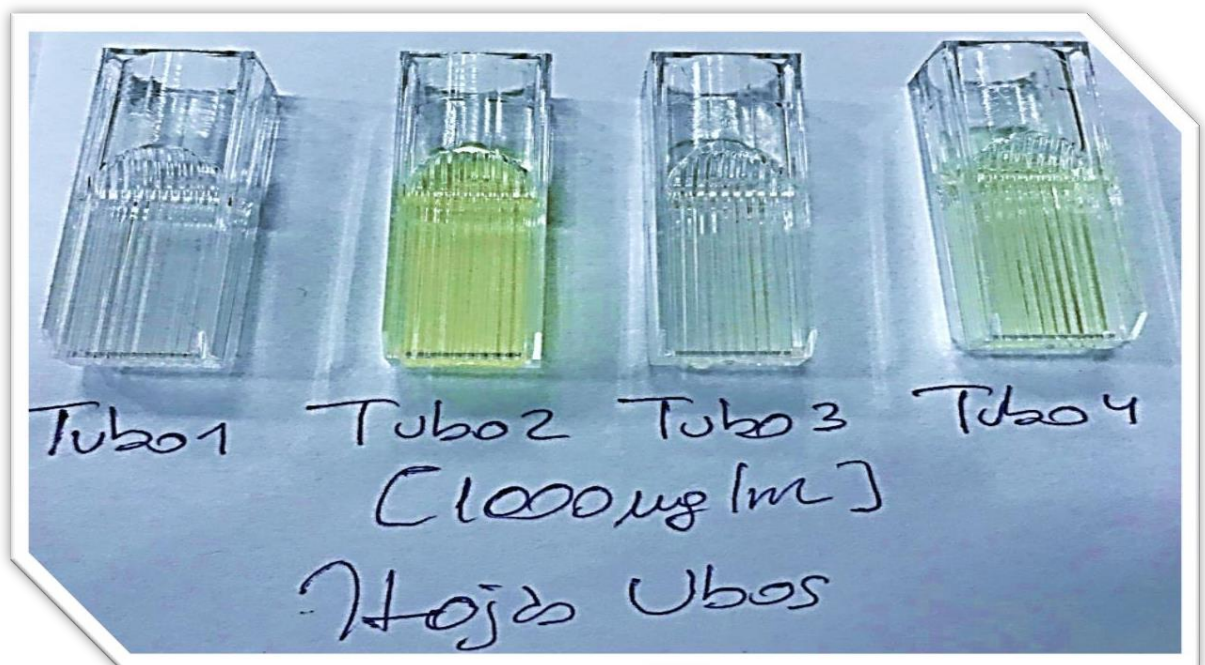
Anexo 2. Esquema del ensayo de la actividad inhibitoria

	Tubo de ensayo 1	Tubo de ensayo 2	Tubo de ensayo 3	Tubo de ensayo 4
p-Nitrofenil α -D- glucopiranosido	125 μ l	125 μ l	125 μ l	125 μ l
Inhibidor (muestra problema)			50 μ l	50 μ l
Buffer fosfato	375 μ l	350 μ l	325 μ l	300 μ l
Pre incubación a 37°C por 5 min				
Enzima α - Glucosidasa 0,24U/ml		25 μ l		25 μ l
Incubación a 37°C por 15 min				
Na ₂ CO ₃ 0,2 M	500 μ l	500 μ l	500 μ l	500 μ l
Leer las absorbancias a 400 nm				

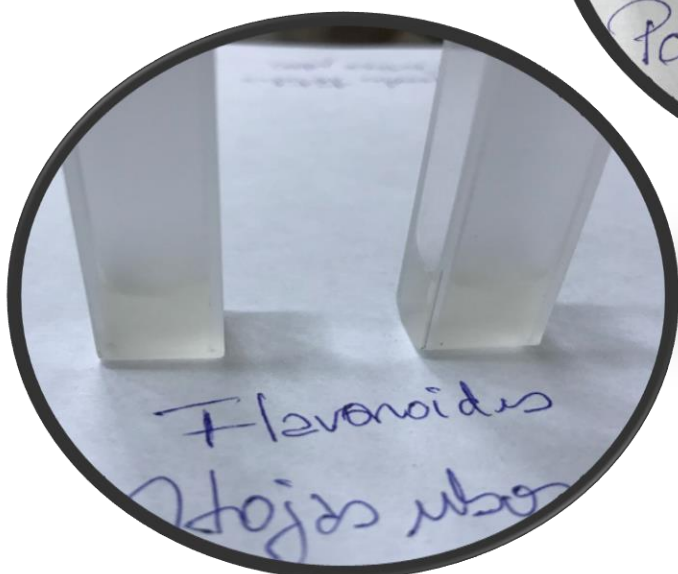
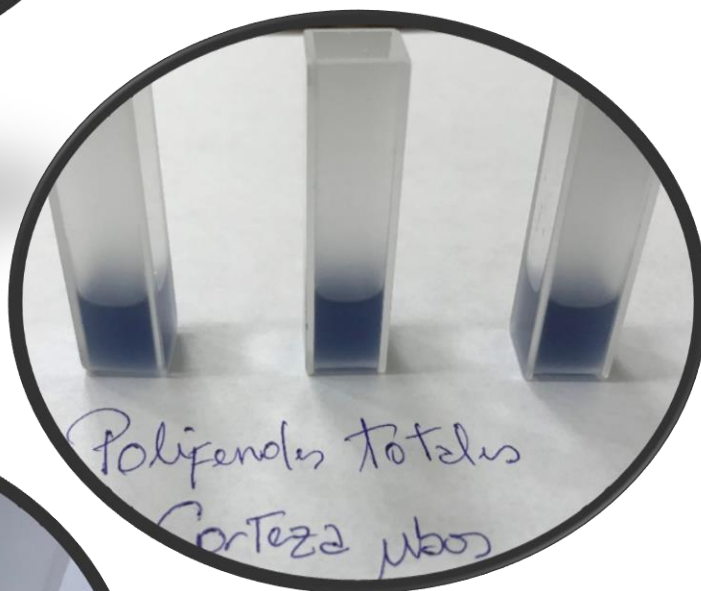
Anexo 3. Lectura en espectrofotómetro UV-visible



Anexo 4. Cubetas con muestra, después de lectura en el espectrofotómetro



Anexo 5. Filtrado de muestra para determinación de metabolitos secundarios

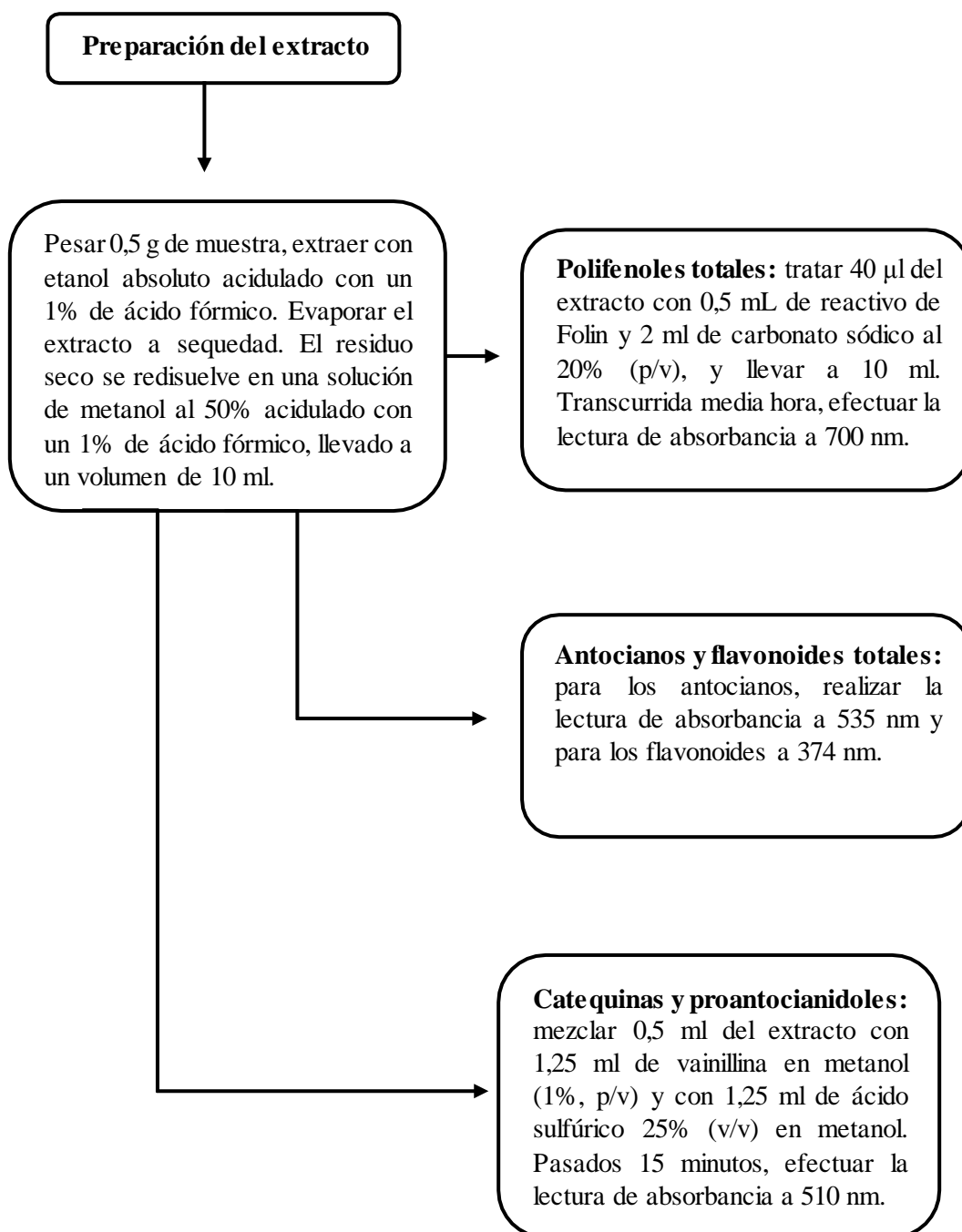


Anexo 6. Hoja de reporte analítico

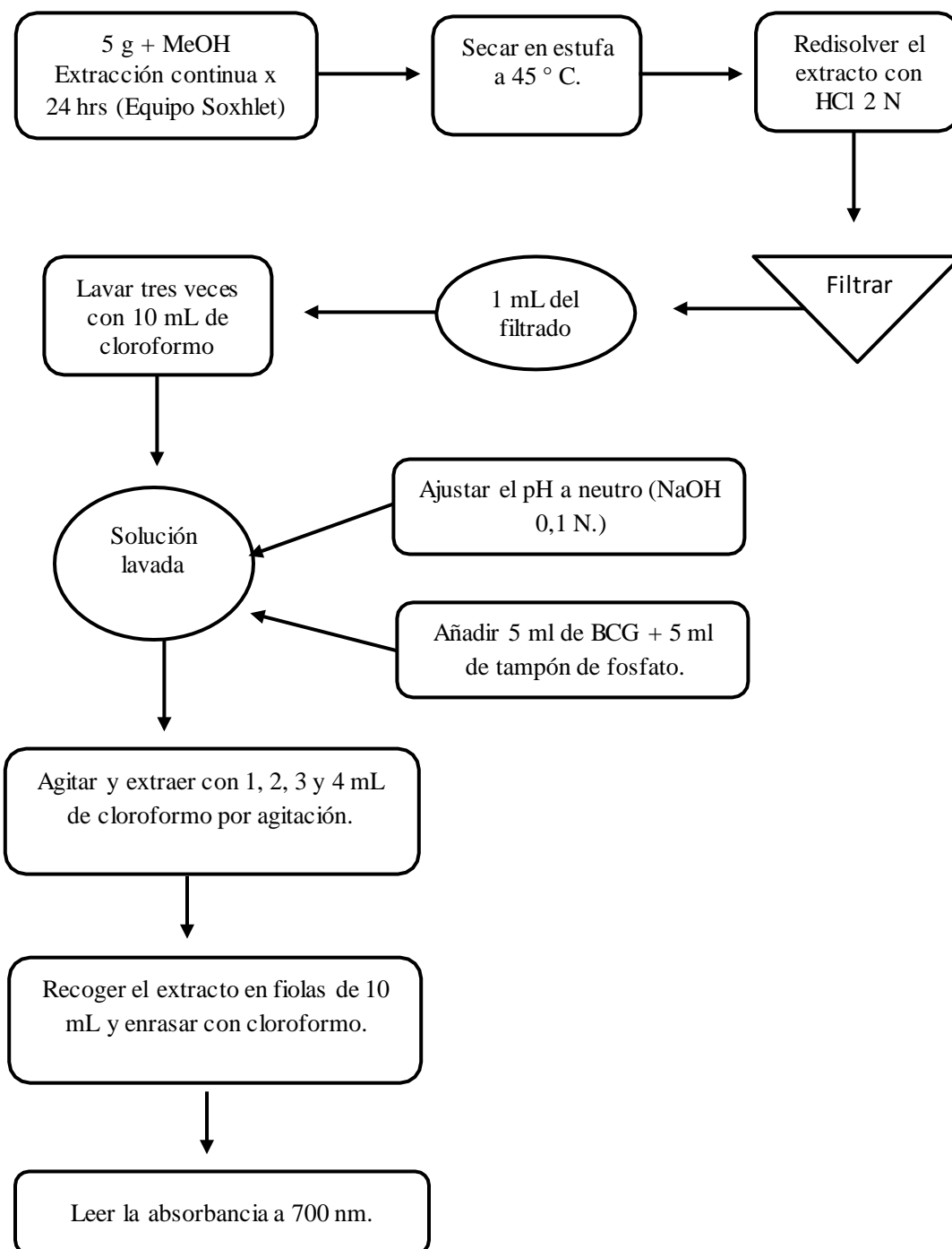
Grupo(s)	Concentraciones (ug/mL)	Longitud de onda λ	Abs		
			R1	R2	R3
I	100	400 nm			
	250				
	500				
	1000				
II	100	400 nm			
	250				
	500				
	1000				
III	100	400 nm			
	250				
	500				
	1000				

Leyenda: ABS=Absorbancia

Anexo 7. Flujoograma de la cuantificación de compuestos fenólicos



Anexo 8. Flujoograma de la cuantificación de Alcaloides



Anexo 9. Flujograma de la cuantificación de saponinas

