



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“SCREENING DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CITOTÓXICA EN  
*Artemia salina* DE: *Arcythophyllum thymifolium*, *Salvia squalens*, *Justicia  
chlorostachya*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Dalea mutisii*”**

**TESIS DE GRADO**

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**PRESENTADO POR**

**IVÁN DANILO GUFFANTE SERRANO**

**RIOBAMBA - ECUADOR**

**2013**

## ***DEDICATORIA***

*A Dios por ser mi guía, protección y fuente de sabiduría*

*A mis padres, a mi hermano, a mis apreciados maestros*

*Y a todos mis amigos y seres queridos, quienes me brindaron su apoyo total e incondicional para concluir mi tesis.*

## ***AGRADECIMIENTO***

*Agradezco a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.*

*Al BQF Fausto Contero, BQF Diego Vinuesa, y al Dr. Francisco Portero miembros de mi tesis por su colaboración incondicional en la realización de la presente investigación*

# ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

## FACULTAD DE CIENCIAS

### ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “SCREENING DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CITOTÓXICA EN *Artemia salina* DE: *Arcythophyllum thymifolium*, *Salvia squalens*, *Justicia chlorostachya*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Dalea mutisii*” de responsabilidad del Sr. Egresado Iván Danilo Guffante Serrano ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Silvio Álvarez

**DECANO FAC. CIENCIAS**

Dr. Iván Ramos

**DIRECTOR DE ESCUELA**

BQF. Fausto Contero

**DIRECTOR DE TESIS**

Dr. Francisco Portero

**MIEMBRO DE TRIBUNAL**

Tc. Carlos Rodríguez

**DIRECTOR CENTRO DE**

**DOCUMENTACIÓN.**

**NOTA DE TESIS ESCRITA**

Yo Iván Danilo Guffante Serrano, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

---

**IVÁN DANILO GUFFANTE SERRANO**

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

%	Porcentaje
mm	Milímetros
ins	Insolubles
R	Asignación al azar o aleatorización
°C	Grados Celsius
g	Gramos
Kg	Kilogramos
mg	Miligramos
µg	Microgramos
mL	Mililitros
dL	Decilitros (NO VA)
%H	Porcentaje de humedad
% C	Porcentaje de cenizas
H	Horas
Min	Minutos.
Med.	Media
M	Mortalidad.
me	Mortalidad en el extracto.
mb	Mortalidad en el blanco.
r	Nauplios muertos en el extracto.
r'	Nauplios muertos en el blanco.
n	Número de individuos.
%M	Porcentaje de Mortalidad
S	Supervivencia
s'	Nauplios vivos en el blanco

## ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE DE ABREVIATURAS</b>	i
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	vii
<b>ÍNDICE DE FOTOGRAFÍA</b>	xi
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	xii
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b>	xiv
<b>INTRODUCCIÓN</b>	
<b>1. MARCO TEÓRICO</b>	1
1.1. Medicina tradicional	1
1.2. Las nuevas tendencias de medicamentos en el ecuador	1
1.3. Plantas medicinales	2
1.3.1. Terpenos y esteroides	2
1.3.2. Flavonoides	3
1.3.3. Cumarinas	3
1.3.4. Cromenos y benzofuranos	3
1.3.5. Quinonas	4
1.3.6. Alcaloides	4
1.4. Tipos de preparaciones fitoterápicas	4
1.4.1. Tinturas	4
1.4.2. Extracto	4
1.4.3. Clasificación de los extractos vegetales	5
1.4.4. Potencia de los extractos vegetales	5
1.5. Antioxidante	5
1.6. Citotoxicidad	7
1.7. Tamizaje fitoquímico	8
1.7.1. Fundamento	8
1.7.2. Metodología en el análisis fitoquímico	8
1.8. Especies vegetales	9
1.8.1. Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> )	9

1.8.1.1.	Características generales	10
1.8.1.2.	Propiedades medicinales	10
1.8.1.3.	Frutos oscuros	11
1.8.1.4.	Un árbol lento	11
1.8.1.5.	Familia Myrtaceae.	11
1.8.1.6.	Hábitat	12
1.8.2.	Salvia ( <i>Salvia</i> spp)	13
1.8.2.1.	Clasificación taxonómica de salvia ( <i>Salvia</i> spp)	13
1.8.2.2.	Características generales	13
1.8.2.3.	Componentes importantes	13
1.8.2.4.	Especies	14
1.8.2.5.	Origen y distribución	16
1.8.2.6.	Descripción botánica	17
1.8.2.7.	Parte terapéutica.	17
1.8.2.8.	Actividad terapéutica	17
1.8.2.9.	Contraindicaciones e interacciones	18
1.8.2.10.	Pumín ( <i>Salvia squalens</i> )	18
1.8.3.	<i>Justicia chlorostachya</i>	18
<b>1.8.3.1.</b>	Insulina vegetal ( <i>Justicia chlorostachya</i> )	19
<b>1.8.3.2.</b>	<b>Historia de la insulina vegetal</b>	<b>19</b>
<b>1.8.3.3.</b>	<b>Usos etnobotánicos ancestrales</b>	<b>19</b>
<b>1.8.3.4.</b>	Cuidados y cultivo	20
<b>1.8.3.5.</b>	Cuidados	20
<b>1.8.3.6.</b>	Cultivo	20
<b>1.8.3.7.</b>	Composición química y actividad farmacología del genero <i>Justicia</i>	20
<b>1.8.4.</b>	<i>Arcytophyllum thymifolium</i>	21
<b>1.8.4.1</b>	Nombre botánico	22
<b>1.8.4.2</b>	Nombres vernáculos	22
<b>1.8.5.</b>	<i>Dalea mutisii</i> (ISO)	23
<b>1.8.5.1.</b>	Descripción	23



1.8.5.2.	Hábitat	23
1.8.5.3.	Estado de conservación	24
1.8.5.4.	Propagación	25
1.8.5.5.	Manejo y desarrollo de las plantas	25
1.8.5.6.	Polinización	27
1.8.5.7.	Usos potenciales	27
1.8.6.	<i>Artemia salina</i>	28
1.8.6.1.	Historia natural	29
1.8.6.2.	Criptobiosis	29
1.8.6.3.	Alimentación	30
1.8.6.4.	Uso en acuarofilia	30
1.8.7.	Radical (química)	31
1.8.7.1.	Tipos de radicales	32
1.8.7.2.	Según la carga	32
1.8.7.3.	Reacciones radicalarias	33
1.8.7.4.	Mecanismo general de una sustitución radicalaria	37
1.8.7.5.	Producción de radicales en seres vivos	34
1.8.8.	Importancia de la investigación de compuestos antioxidantes	35
1.8.8.1.	Selección de microorganismos	36
1.8.8.2.	Medio de cultivo	36
1.8.8.3.	Determinación de citotoxicidad de extractos obtenidos	36
<b>CAPÍTULO II</b>		<b>39</b>
2.	Parte experimental	39
2.1.	Lugar y pruebas de ensayo	39
2.2.	Recursos materiales	39
2.2.1.	Materiales vegetales y biológicos	39
2.2.1.1.	Extractos fluidos vegetales	39
2.2.1.2.	Materiales	39
2.2.1.3.	Material biológico	40

2.2.2.	Equipos	40
2.2.3.	Reactivos	41
2.3.	Unidad experimental o de análisis	41
2.4.	Metodología	41
2.4.1.	Droga cruda y extracto fluido	41
2.4.1.1.	Recolección de droga vegetal	41
2.4.2.	Pruebas para control de calidad de droga cruda	42
2.4.2.1.	Análisis macroscópico de hojas de plantas	42
2.4.2.2.	Análisis fisicoquímico de las hojas de las plantas	42
2.4.2.3.	Procedimiento de extracto fluido vegetal	43
2.4.3.	Determinación de citotoxicidad de extractos obtenidos	49
2.4.3.1.	Materiales	49
2.4.3.2.	Procedimiento	50
2.4.4.	Capacidad antioxidante	52
2.4.4.1.	Ensayo de capacidad antioxidante según el método enzimático de inhibición de la polifenoloxidasas	52
2.4.4.2.	Buffer	52
2.4.4.3.	Sustrato	52
2.4.4.4.	Muestra a ensayo	53
2.4.4.5.	Antioxidante	53
2.4.4.6.	Preparación y estandarización de soluciones	54
<b>CAPÍTULO III</b>		<b>55</b>
3.	Resultados y discusión	55
3.1.	Calidad de droga cruda	55
3.2.	Análisis macroscópicos de las hojas	55
3.3.	Control físico- químico de las hojas	56
3.3.1.	Determinación de humedad	56
3.3.2.	Determinación de cenizas totales solubles en agua e insolubles en ácido clorhídrico de la droga cruda	57

3.3.3.	Calidad físico – química de los extractos fluidos de las plantas utilizadas	57
3.3.4.	Tamizaje fitoquímico	58
3.3.5.	Cromatografía de capa delgada (TLC) de los extractos fluidos de las plantas	59
3.3.6.	Cromatografía para flavonoides presentes en los extractos fluidos	59
3.4.	Determinación de citotoxicidad de extractos	65
3.5.	Determinación de actividad antioxidante	74
<b>CAPÍTULO IV</b>		<b>80</b>
4.	Conclusiones	80
<b>CAPÍTULO V</b>		<b>82</b>
5.	Recomendaciones	82
<b>CAPÍTULO VI</b>		<b>83</b>
6.	Resumen	83
	Summary	85
<b>CAPÍTULO VII</b>		<b>86</b>
7.	Bibliografía	86
<b>CAPÍTULO VIII</b>		<b>97</b>
8.	Anexos	97

## ÍNDICE DE CUDROS

CUADRO N° 1	TAMIZAJE FITOQUIMICO ENSAYO Y METABOLITOS .....	44
CUADRO N° 2	PROCEDIMIENTO PARA ENSAYO DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	54
CUADRO N° 3	HUMEDAD DE LAS HOJAS DE <i>Arcythophyllum thymifolium</i> , <i>Salvia squalens</i> , <i>Justicia chlorostachya</i> , <i>Myrcianthes rhopaloides</i> , <i>Dalea mutisii</i> ". Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	56
CUADRO N° 4	CENIZAS TOTALES SOLUBLES EN AGUA E INSOLUBLES EN ACIDO CLORHÍDRICO DE LA DROGA CRUDA Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	57
CUADRO N° 5	DETERMINACIÓN ORGANOLÉPTICA DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE <i>Arcythophyllum thymifolium</i> , <i>Salvia squalens</i> , <i>Justicia chlorostachya</i> , <i>Myrcianthes rhopaloides</i> , <i>Dalea mutisii</i> , Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	58
CUADRO N° 6	TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LAS DROGAS CRUDAS, Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	59
CUADRO N° 7	Rf DE BANDAS DE FLAVONOIDES PRESENTES EN LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE ARRAYÁN ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ) Y PUMÍN ( <i>Salvia squalens</i> ), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	63
CUADRO N° 8	Rf DE BANDAS DE FLAVONOIDES PRESENTES EN EL EXTRACTOS FLUIDO INSULINA ( <i>Justicia chlorostachy</i> ), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	63

CUADRO N° 9	Rf DE BANDAS DE FLAVONOIDES PRESENTES EN LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	64
CUADRO N° 10	Rf DE BANDAS DE FLAVONOIDES PRESENTES EN LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	64
CUADRO N° 11	ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 10 µg.....	65
CUADRO N° 12	ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA DE LA CITOTO CICIDAD ENTRE LOS EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 10 µg.....	66
CUADRO N° 13	COMPARACIONES MULTIPLES TUKEY HSD 95% DE LOS EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 10 µg.....	67
CUADRO N° 14	ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 100 µg.....	68

CUADRO N° 15	ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA DE LA CITOTO CICIDAD ENTRE LOS EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcytophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 100 µg.....	69
CUADRO N° 16	COMPARACIONES MULTIPLES TUKEY HSD 95% DE LOS EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcytophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 100 µg.....	70
CUADRO N° 17	ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcytophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 1000 µg.....	71
CUADRO N° 18	ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA DE LA CITOTO CICIDAD ENTRE LOS EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcytophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 1000 µg.....	72
CUADRO N° 19	COMPARACIONES MULTIPLES TUKEY HSD 95% DE LOS EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcytophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 1000 µg.....	73
CUADRO N°20	ESTADÍSTICO PARA LA VARIABLE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcytophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia</i>	

	<i>chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 10ppm para plantas.....	74
CUADRO N° 21	COMPARACIONES MULTIPLES TUKEY HSD 95% DE LOS EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 10 ppm.....	75
CUADRO N° 22	ESTADÍSTICO PARA LA VARIABLE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 100ppm para plantas.....	76
CUADRO N° 23	COMPARACIONES MULTIPLES TUKEY HSD 95% DE LOS EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 100 ppm.....	78

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N°1 RAMA DE ARRAYÁN ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> )	9
FOTOGRAFÍA N°2 PUMÍN ( <i>Salvia squalens</i> )	18
FOTOGRAFÍA. N°3 INFLORESCENCIA DE <i>Justicia chlorostachya</i>	19
FOTOGRAFÍA N°4 <i>Arcytophyllum thymifolium</i>	22
FOTOGRAFÍA. N°5 HOJAS <i>Dalea mutissi</i> (ISO)	24
FOTOGRAFÍA. N°6 Flores <i>Dalea mutissi</i> (ISO)	26
FOTOGRAFÍA. N°7 FLORECIMIENTO <i>Dalea mutissi</i> (ISO)	28
FOTOGRAFÍA N°8 <i>Artemia salina</i>	29



## ÍNDICE DE FIGURAS

FIG. N° 1	MECANISMO GENERAL DE UNA REACCIÓN DE SUSTITUCIÓN RADICALARIA.....	33
FIG. N°2	ESQUEMA DE CROMATOGRAMAS OBTENIDO PARA FLAVONOIDES EN LOS EXTRACTOS DE: <i>Arcythophyllum</i> <i>thymifolium</i> , <i>Salvia squalens</i> , <i>Justicia chlorostachya</i> , <i>Myrcianthes</i> <i>rhopaloides</i> , <i>Dalea mutisii</i> . Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	62
FIG. N°3	CAJAS Y ALAMBRES PARA EL ANÁLISIS DE CITOTOCICIDAD DE EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 10 µg.....	65
FIG. N° 4	CAJAS Y ALAMBRES PARA EL ANÁLISIS DE CITOTOCICIDAD DE EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 100 µg.....	68
FIG. N° 5	CAJAS Y ALAMBRES PARA EL ANÁLISIS DE CITOTOCICIDAD DE EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 1000 µg.....	71
FIG. N° 6	CAJAS Y ALAMBRES PARA EL ANÁLISIS DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum</i> <i>thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ),	

Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> )	10
ppm.....	74

FIG. N° 7	CAJAS Y ALAMBRES PARA EL ANÁLISIS DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> )	100
	ppm.....	77

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1	CITOTOXICIDAD DE EXTRACTO FLUIDOS DE INSULINA ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	97
ANEXO N°2	CITOTOXICIDAD DE EXTRACTO FLUIDOS DE PUMÍN ( <i>Salvia squalens</i> ), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	97
ANEXO N°3	CITOTOXICIDAD DE EXTRACTO FLUIDOS DE ARRAYÁN ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	98
ANEXO N°4	CITOTOXICIDAD DE EXTRACTO FLUIDOS DE ISO ( <i>Dalea mutisii</i> ), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	98
ANEXO N°5	CITOTOXICIDAD DE EXTRACTO FLUIDOS DE CHISAG <i>Arcythophyllum thymifolium</i> Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	98
ANEXO N° 6	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FLUIDOS DE PUMÍN ( <i>Salvia squalens</i> ), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	99
ANEXO N° 7	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FLUIDOS DE ISO ( <i>Dalea mutisii</i> ), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	100

ANEXO N° 8	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FLUIDOS DE CHISAG ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	101
ANEXO N° 9	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FLUIDOS DE ARRAYÁN ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	102
ANEXO N°10	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FLUIDOS DE INSULINA ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012.....	103
ANEXO N°11	ESTADÍSTICO KRUSKAL-WALLIS PARA LOS EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 10 ppm.....	104
ANEXO N°12	ESTADÍSTICO KRUSKAL-WALLIS PARA LOS EXTRACTOS DE Chisag ( <i>Arcythophyllum thymifolium</i> ), Pumín ( <i>Salvia squalens</i> ), Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> ), Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ), Iso ( <i>Dalea mutisii</i> ) 100 ppm.....	105

## INTRODUCCIÓN

El debate sobre la citotoxicidad y el poder antioxidante de ciertos ingredientes que se encuentran en algunas plantas es de gran importancia para el uso adecuado de estas, ya que al conocer la actividad de dichos extractos se podrán utilizar de una mejor manera para el beneficio de la comunidad.

El objetivo de la investigación es establecer la presencia o ausencia de actividad tanto antioxidante como citotóxica además de establecer la concentración más adecuada en la que el extracto obtenido de estas plantas ejerza actividad citotóxica probándola en *Artemia salina* y actividad antioxidante por inhibición de la polifenoloxidasas.

La propiedad citotóxica de estas plantas nos indicara que el consumo excesivo puede causar problemas en la salud de las personas provocando enfermedades que en el peor de los casos puedan llevar a la muerte de las individuos que las consuman en altas concentraciones, mientras que el poder antioxidante nos ayudaría a prevenir enfermedades que se deben a la acumulación de radicales libres que son la principal causa de problemas en la salud de la comunidad.

El conocimiento de la actividad citotóxica en forma de la DL50 de cada extracto es indispensable para completar los estudios científicos de utilización de cada planta, pues solo mediante este tipo de estudios se puede establecer el rango de dosis a administrarse sin riesgo de inseguridades para el paciente.

El estudio de nuevas alternativas de fuentes de moléculas antioxidantes en recursos naturales propios para el país abrirá nuevas oportunidades de cuidar la salud, previniendo alteraciones

debidas a la acción negativa de radicales libres, abaratando costos de tratamientos medicamentosos dirigidos a este fin. De igual manera, los antioxidantes naturales pueden ser utilizados para la preservación de otros productos de consumo humano, desde cosméticos hasta alimentos.

Las plantas en las cuales se comprobarán las actividades pertenecen a la flora nativa de Ecuador, y aunque cuentan con varios estudios referentes a su uso en la medicina tradicional y que han evidenciado la presencia de importantes moléculas con marcada actividad biológica, no han sido objetos de la adecuada investigación que revele su seguridad biológica y eficacia como antioxidantes.

Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para la generación de energía liberan radicales libres, lo que es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos de defensa contra estas especies. Esta defensa se realiza a través de los antioxidantes y se considera como tal a cualquier sustancia que en concentraciones normales, posee una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interacciones con un radical libre (FERREIRA R.1995) (5)

En los países en desarrollo y en particular en Ecuador, las personas de bajos ingresos, utilizan la medicina popular para el tratamiento de muchas enfermedades.(2) (BUCHANON R, 1984).

Está muy extendida la creencia de que las plantas medicinales son seguras porque se han empleado desde la antigüedad, lo que les confiere una experiencia de uso de cara a su seguridad. El uso continuado durante años (o siglos) no es una garantía de seguridad y lo "natural" no tiene porque ser más seguro que los productos sintéticos. Los efectos terapéuticos se basan en la acción de los principios activos, presentes tanto en la planta medicinal como en la especialidad farmacéutica convencional, e incluso muchos de los principios activos contenidos en estas especialidades son de origen vegetal o han sido obtenidos por procesos de semisíntesis. (39)

Las plantas que se utilizarán para nuestro estudio se encuentran con mucha facilidad en nuestro entorno, estas crecen a 2800 metros sobre el nivel del mar, pueden soportar sitios más secos y

alcanza su mayor abundancia en las laderas bajas de las montañas (y antiguamente en la planicie) a alturas que oscilan entre 2600 y 2800 metros, su tamaño puede variar, desde pequeños arbustos con un tamaño de 60 centímetros hasta árboles que pueden alcanzar los 20 metros. de estas plantas se han utilizado diferentes partes como las hojas, la raíz, el tallo, sus flores, etc para el tratamiento de enfermedades es por esta razón que se realizara un estudio adecuado para determinar si los extractos de estas plantas pueden ser utilizados como agentes antioxidantes, además del grado de citotoxicidad que dichos extractos pueden tener en organismos vivos. (39)

## **CAPÍTULO I**

### **1. MARCO TEÓRICO**

#### **1.1 MEDICINA TRADICIONAL**

La medicina tradicional es todo el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados por el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales (PALOMINO E, 2009) (34)

#### **1.2 LAS NUEVAS TENDENCIAS DE MEDICAMENTOS EN EL ECUADOR**

En los últimos quince años en el país produjeron notables cambios en la formulación de formas farmacéuticas sólidas, fundamentalmente en la incorporación de nuevos excipientes en la producción de medicamentos, en la actualidad, se tiende a incrementar el uso de agentes humectantes y deslizantes, simplificando de esta manera las formulaciones, éstas requieren del agregado de sustancias excipientes que mejoren las características farmacotécnicas de los extractos en la línea de producción. (1)

La elección de la forma farmacéutica más apropiada para un producto fitoterápico debe considerar los siguientes objetivos. (1)

- a.** Mantener la eficacia y la seguridad del componente activo y asegurar su calidad.



- b. Permitir la administración de la dosis efectiva del componente activo, con precisión adecuada a su empleo seguro y su adecuación a casos específicos.
- c. Resolver los problemas de estabilidad.
- d. Aumentar el nivel de adherencia al tratamiento confiriéndole características (gustativas, olfatorias y visuales) aceptables al producto. (1).

### 1.3 PLANTAS MEDICINALES.

De acuerdo a la OMS, Planta Medicinal es todo vegetal que contienen en uno o más de sus órganos sustancias que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos o que son los precursores de hemisíntesis farmacéutica. El valor medicinal de una planta se debe a la presencia en su tejido de una o varias sustancias químicas conocidas como principios activos, son aquellos los compuestos de los medicamentos herbarios que tienen efecto terapéutico produciendo una acción fisiológica concreta sobre el organismo humano. (3).

Los constituyentes químicos se agrupan según su origen biosintético en:

#### 1.3.1 TERPENOS Y ESTEROIDES

- a. **Monoterpenos:** Constituye un importante grupo de hidrocarburos, alcoholes y cetonas, son los compuestos mayoritarios de los aceites esenciales obtenidos de hojas, raíces corteza y flores de diversas plantas.(34)
- b. **Sesquiterpenlactonas:** Son derivados biogénicamente de los sesquiterpenos, sustancias amargas que se encuentran en todas las partes de las plantas, de gran importancia por la variada acción biológica, por su acción citotóxica, antitumoral, analgésica, inhibidora del crecimiento de bacterias, entre otras.(348)
- c. **Diterpenos:** Provee la función protectora a la planta, el crecimiento vegetal, actividad antitumoral, actividad irritante, actividad antiinflamatoria, edulcorante, etc.(34)
- d. **Triterpenoides y Esteroides:** Los triterpenoles y esteroides son sólidos, incoloros, cristalinos, ópticamente activos, de alto punto de fusión; los esteroides, generalmente tienen punto de fusión menor a 200°C y los triterpenos mayor que 200°C. las saponinas

son glicósidos de ambos, triterpenos y esteroides, dan soluciones jabonosas, y algunos extractos crudos de plantas. Los glicósidos cardíacos tienen la habilidad de ejercer una específica y fuerte acción sobre el músculo cardíaco, son llamados también principios cardíacos. (34).

### 1.3.2 FLAVONOIDES

Son uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuidos, generalmente encontrados con aglicona y/o glicósidos, se hallan presentes en todas las partes de las plantas, siendo más comunes las flavonas y flavonoles, y más restringidas en sus ocurrencias las isoflavonas, las chalconas y auronas. Los flavonoides se emplean en la conservación de grasas y jugos de frutas debido a la propiedad antioxidante, sirven como dilatadores de las coronarias, espasmolíticos, antihepatotóxica, colerética, estrogénica diurética, antimicrobiana y fungitóxica. (33)

### 1.3.3 CUMARINAS

Son compuestos altamente distribuidos en todas las partes de la planta desde la raíz a flores y frutos siendo más abundante en estos últimos. Poseen un amplio rango de actividad biológica: acción anticoagulante, antibacteriana, antibiótica, hepatotoxicidad, carcinogenicidad, fotosensibilizadora, insecticida como también aplicaciones como saborizantes y en perfumería. (33)

### 1.3.4 CROMENOS Y BENZOFURANOS

Estos compuestos se encuentran presentes generalmente en hojas, tallos y raíces, han demostrado ser biológicamente activas siendo: bacteriostáticos, actividad antitumoral, fototóxicos a varios hongos y bacterias, acción insecticida. (33)

### 1.3.5 QUINONAS.

Las quinonas son un grupo de compuestos cuya coloración puede ser desde el amarillo pálido hasta casi negro. Se encuentra frecuentemente en la corteza, en el corazón de la madera o de la raíz, en algunos casos en las hojas donde su color está enmascarado por otros pigmentos, han sido reconocidas por sus propiedades tintóreas; algunas presentan además otras propiedades como catártica, antimicótica, activa para la leishmaniasis, cilostática, bacteriostática, etc. (34)

### 1.3.6 ALCALOIDES.

Los alcaloides constituyen el grupo más grande de metabolitos secundarios de la planta. Se encuentra en las semillas, raíces, cortezas y hojas; al estado libre o como glicósidos o formando sales con ácidos orgánicas, poseen significativa actividad farmacológica como: antiespasmódico, anestésico local, sedante, analgésico, hipnótico, emético, expectorante, antipirético, amebicida, estimulante cardíaco, diurético, micriático, narcótico, tónico, emenagogo, antiséptico, vasoconstrictor, relajante muscular, antitumoral, hipotensores. (33)

## **1.4 TIPOS DE PREPARACIONES FITOTERÁPICAS**

### 1.4.1 TINTURAS

Son preparaciones donde el proceso de extracción de principios activos se ha llevado a cabo mediante una maceración, con alcohol-agua, con un grado alcohólico determinado dependiendo de los principios activos de cada planta, la relación entre planta y disolvente puede variar de 10 al 20%. (3).

### 1.4.2 EXTRACTO

Es el producto líquido obtenido a partir de plantas o parte de ellas con varios procedimientos y con varios solventes. Entre las diferentes preparaciones galénicas, la Tintura Madre

espagírica (extracto hidroalcohólico en el cual se encuentra toda la fuerza de la planta fresca) es el más elevado nivel cualitativo/cuantitativo. (3)

### 1.4.3 CLASIFICACIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES.

Los Extractos pueden clasificarse en:

- a. **Extractos fluidos o líquidos:** donde 1 g de planta equivale a 1 g de extracto. Tienen el inconveniente de que la mayor parte de alcohol, se ha evaporado en el proceso, y no actúa como conservante por lo que su caducidad es corta.(3)
- b. **Extracto semisólido o blando:** Tienen una riqueza superior a la droga de partida, se obtiene evaporando el disolvente hasta obtener un producto de textura semisólida pero que no moja el papel de filtro.(3)
- c. **Extracto seco:** Contienen menos del 4% de agua. Dentro de los extractos secos, los más eficaces y con casi la totalidad de principios activos de las plantas. (3)

### 1.4.4 POTENCIA DE LOS EXTRACTOS VEGETALES

La potencia de los extractos herbarios habitualmente se expresa su potencia en términos del contenido de estos principios activos o de su potencia basándose en su concentración, para el extracto fluido es de 1:1 (5 o 10 veces más potentes que una tintura). (33).

## 1.5 ANTIOXIDANTE

Para entender que es un antioxidante es necesario entender primero que son los radicales libres. Se puede considerar a los radicales libres como fragmentos de moléculas que son responsables de lesiones en los tejidos. Estos se producen en la mayor parte de las células corporales como subproducto del metabolismo; los radicales libres más importantes son el oxígeno, el superóxido, los radicales de hidroxilo, el peróxido de hidrógeno y los metales de

transición. Los radicales libres que se forman dentro de las células pueden producir la muerte celular.(2)

El ADN es muy sensible a la oxidación por los radicales libres y éstos podrían jugar un papel importante en las mutaciones que preceden al desarrollo de un cáncer. (2)

Los antioxidantes son mecanismos corporales para proteger a las células de los efectos nocivos de los radicales libres. (2)

El cuerpo tiene defensas contra enfermedades e infecciones. Las vitaminas E, C y los betacarotenos (precursores de la vitamina A), el selenio y otros oligoelementos en menor proporción (como el zinc, selenio, hierro y el cobre), además de los fitoquímicos, son antioxidantes que tienen funciones importantes en este sentido, por lo que actúan para defender al organismo contra un sinnúmero de enfermedades crónicas.(2)

El daño por oxidación celular puede lesionar las defensas corporales contra algunos cánceres. (2)

Un estudio, revela que ciertos alimentos y bebidas con poder antioxidante ayudan a preservar el funcionamiento sexual, a prevenir infartos y a alargar la vida. Otro estudio demostró que los betacarotenos protegen contra rayos X y contra cáncer pulmonar. (2)

En el proceso de envejecimiento, se piensa que los radicales libres causan cambios degenerativos en el sistema inmunológico, lo que quizá conduce a la formación de cataratas, placas ateroscleróticas, artritis y enfermedades de Párkinson. Los antioxidantes trabajan precisamente evitando la acción dañina de los radicales libres. (2)

Existen suplementos vitamínicos en el mercado que pueden ser útiles en el caso de no tener una alimentación adecuada. Sin embargo, se debe siempre consultar al profesional de la salud para utilizarlos correctamente, ya que un exceso puede producir consecuencias adversas y muchos productos en el mercado tienen cantidades que sobrepasan lo recomendado. (2)

La evidencia científica también sugiere que podrían colaborar a favor de otras patologías como la osteoporosis y los problemas intestinales y que pueden contribuir en la disminución de artritis, las alergias y la enfermedad de Alzheimer (2)

## 1.6 CITOTOXICIDAD

La citotoxicidad celular constituye uno de los mecanismos efectores de determinadas poblaciones celulares especializadas del sistema inmunitario, consistente en la capacidad para interaccionar con otras células y destruirlas. Cualquier tipo celular, normal o patológico, puede ser potencialmente susceptible a las células citotóxicas, y se emplea gráficamente el término "células diana" para su designación.(22)

Este mecanismo de respuesta interviene en la defensa frente a infecciones víricas y células neoplásicas, así como en la destrucción de células alogénicas en transplantes de órganos. Se consideran como prototipos de las células especializadas en dicha función a una subpoblación de linfocitos T (Tc, CTL o cytotoxic T lymphocyte) y a las células natural killer (NK).(21)

Desde que se definió el fenómeno de citólisis, es sabido que la función citotóxica exige de una actividad metabólica activa de la célula a temperatura fisiológica, no implica la síntesis "de novo" de proteínas, y requiere tanto la presencia de cationes divalentes ( $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ ) como la integridad del citoesqueleto. (21)

Las diferentes fases del proceso lítico están reguladas por diversos tipos de receptores con acciones a veces contrapuestas, y el efecto final es la consecuencia del equilibrio que en cada momento se alcance. El proceso lítico es una acción que se desarrolla en fases sucesivas que se inicia con el reconocimiento de las células implicadas en el proceso y termina con la lisis de la célula diana. (21)

Las principales etapas en las que se desarrolla el proceso de citólisis son las siguientes: (21)

1. **Fase de reconocimiento y adhesión intercelular.** Las células efectoras interaccionan a través de diferentes receptores de superficie con estructuras en la membrana de la

diana. Esta fase es dependiente de  $Mg^{2+}$ , no requiere  $Ca^{2+}$  y puede producirse por debajo de la temperatura fisiológica.(21)

2. **Fase de activación de la célula efectora.** La interacción de los receptores de superficie con sus ligandos determina la transducción de señales a la célula que conlleva la generación de segundos mensajeros, la aparición de cambios estructurales y la exocitosis del contenido de los gránulos de secreción al espacio intercelular, tras la fusión de los mismos con la membrana plasmática.(21)
3. **Fase lítica.** Esta etapa viene determinada por la acción de diferentes componentes de la célula efectora sobre la diana, la cual experimenta una serie de complejas alteraciones que inician su desestructuración. Tanto esta fase como la anterior son dependientes de  $Ca^{2+}$ . (21)
4. **Fase de disociación del contacto intercelular.** Permitiendo que la célula efectora inicie potencialmente un nuevo ciclo lítico, a la par que prosigue la destrucción de la célula diana. (21)

## **1.7 TAMIZAJE FITOQUÍMICO**

### **1.7.1 FUNDAMENTO**

El Tamizaje fitoquímico se basa en pruebas preliminares sencillas y rápidas que permiten detectar cualitativamente la presencia de determinados grupos de compuestos, se ayudan de la microquímica para evidenciar estos grupos de constituyentes mediante formación de precipitados, coloraciones, etc.(4)(31)

Estas reacciones se caracterizan porque son selectivas para las clases o grupos de compuestos que se investigan, son simples y rápidas, detectan la mínima cantidad posible y utilizan un mínimo de equipo de laboratorio. (4)(31)

### **1.7.2 METODOLOGÍA EN EL ANÁLISIS FITOQUÍMICO**

En términos generales un análisis fitoquímico debe comprender tres etapas bien definidas:

- Recolección y clasificación botánica de la especie en estudio

- Extracción, separación y purificación de constituyentes químicos
- Determinación estructural, y ensayos farmacológicos. (4)(31)

## 1.8 ESPECIES VEGETALES

### 1.8.1 ARRAYAN (*Myrcianthes rhopaloides*)

#### CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ARRAYÁN (*Myrcianthes rhopaloides*)

<b>REINO</b>	Plantae
<b>División</b>	Fanerógama Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Myrtales
<b>Familia</b>	Myrtaceae
<b>Género:</b>	<i>Myrtus</i>
<b>Especie</b>	<i>Myrcianthes rhopaloides</i>



FUENTE: (LIZCANO, A 2008)

FOTOGRAFÍA N° 1 RAMA DE ARRAYÁN (*Myrcianthes rhopaloides*)

#### 1.8.1.1 Características generales.



**Otros nombres:** Arrayán, arrayán común, arrayán morisco, mata gallinas, mirto, murta, murtal, murtiñera, murtones, murtones, murtrón.(6)

**Etimología del nombre científico:** Árabe Ar-Rayhan o Rihan- el “aromático” (6)

La esencia se compone de  $\alpha$ - $\beta$  pineno, cineol y mirtol, también se han encontrado flavonoides, quercitina, camferol, miretina y dos glúcidos de miricetina. (6)

Entre los más importantes se encuentra: 1) Linalol (monoterpeno) es un alcohol terpénico ( $C_{10}H_{18}O$ ) terciario insaturado y está presente en un porcentaje del 19%, por lo tanto sería un buen marcador químico en las pruebas de control de calidad del aceite, 2 ) Eucaliptol (monoterpeno) es un alcohol terpénico ( $C_{10}H_{18}O$ ) y está presente en un porcentaje del 11,73%; se caracteriza por sus propiedades como balsámico, expectorante y antiséptico. 3) Limoneno es un hidrocarburo terpénico principal componente de muchos aceites esenciales, principalmente cítricos, y está presente en una concentración del 8,56%. (16)

### **1.8.1.2 Propiedades medicinales**

Para infecciones pulmonares y bronquitis, urinarias (cistitis) e intestinales es un poderoso antiséptico pulmonar usado en numerosas especialidades farmacéuticas en forma sobre todo de supositorios; el cocimiento de los frutos y hojas es muy útil para el cabello, limpia la caspa, deseca las llagas del cuero cabelludo y ennegrece el cabello, detiene su caída y previene la alopecia. (26)

Esta especie se distingue del arrayán común (*Myrcianthes leucoxylla*) por varias características. Entre ellas su mayor tamaño (alcanza con regularidad hasta 20 m de altura y más de 50 cm de diámetro del tronco, mientras que el arrayán común suele ser bastante menor). Su corteza, parecida a la del guayabo, presenta parches lisos de color claro, mientras que la del arrayán común es más rugosa y oscura. En el interior de la Sábana de Bogotá ambas especies están además, bastante separadas ecológicamente. El arrayán negro es un árbol propio de bosques húmedos en las laderas altas de las montañas, que crece principalmente por encima de 2800 metros sobre el nivel del mar, mientras que el arrayán común soporta sitios más secos

y alcanza su mayor abundancia en las laderas bajas de las montañas (y antiguamente en la planicie) a alturas que oscilan entre 2600 y 2800 metros. (8).

### **1.8.1.3 Frutos oscuros**

Los frutos del arrayán negro son globosos, alcanzan entre 1 y 2 cm de diámetro y son característicos por tornarse de color morado o café oscuro al madurar. En esto se diferencian mucho de los frutos del arrayán común, que maduran en rojo. Estos frutos, al igual que el follaje del árbol, presentan un olor muy aromático. Cuando los arrayanes negros están cargados de frutos maduros, son visitados por multitud de aves que los comen, incluyendo mirlas (*Turdus fuscater*), cotingas (*Ampelion rubrocristatus*) y clarineros (*Anisognathus igniventris*). (26).

### **1.8.1.4 Un árbol lento**

El arrayán negro es una especie propia de bosques bien conservados y tiene un crecimiento muy lento. Ejemplares de alrededor de 10 años de edad, en condiciones óptimas de suelo e iluminación, pueden alcanzar apenas la altura de un hombre adulto. Los arrayanes germinan bien entre la hojarasca en el suelo del bosque y durante sus primeras etapas de desarrollo prefieren un ambiente algo sombreado. Además, requieren de suelos fértiles y un ambiente húmedo a su alrededor. Por esto, son ideales para ser sembrados a orillas de quebradas y otros cursos de agua. (26).

### **1.8.1.5 Familia Myrtaceae**

Es un arbusto, árbol de hojas perenne, por lo general con aceites esenciales que contienen cavidades en el follaje, las ramitas y flores. Estípulas ausentes o pequeñas y caducas. Hojas opuestas, a veces alternas, de vez en cuando Ternate o pseudo-espinal, lámina de la hoja secundaria con venas pinnadas o basal, a menudo con venas intramarginales cerca del margen, el margen por lo general todo. Inflorescencias terminales, flores bisexuales, a veces polígamas, actinomorfas, hipanto generalmente adnatos o de ovario y prolongada por encima de ella.

Cáliz lóbulos (3, 4, 5 o más), distintos o connados en un calyptra. Pétalos 4°5, o a veces ausentes distintos o connados en una calyptra, a veces coherentes y pseudocalyptrate.(27).

Estambres generalmente numerosos, en uno a varios verticilos, filamentos separados o connados en 5 paquetes de pétalos contrario, anteras 2-célula, dorsifijas o basifijas, dehiscentes longitudinalmente o en fase terminal rara vez; conectivas generalmente termina en una o más apical glándulas. Ovario inferior, semi-inferior, o muy rara vez superior, carpelos 2 a más, lóculos, pseudoseptum muchas veces presente, placentación usualmente parietal axilar, pero de vez en cuando; óvulos. Único. Estigma Frutas una cápsula , bayas , bayas drupas o drupa , de muchas semillas. Semillas sin endosperma endospermo escaso o y delgada; testa cartilagosos o finamente membranosa, a veces ausente, embrión recto o curvo. (27)

Cerca de 130 géneros y 4500-5000 especies: región del Mediterráneo, el África subsahariana, Madagascar, tropicales y templadas de Asia, Australia, islas del Pacífico, tropical y América del Sur, 10 géneros (cinco introducido) y 121 especies (50 endémicas, de 32 años presentó tratados aquí) en China.(28)

Myrtaceae se cultivan plantas ornamentales de jardín, árboles en las calles, o los árboles de las plantaciones. Algunos miembros de la tribu Syzygieae cultivan como plantas frutales (28)

#### **1.8.1.6 Hábitat**

Por lo general se encuentran a una altitud de 0 a 4.653 metros (0 a 15.266 pies). (28)

### **1.8.2 *Salvia* (*Salvia* spp)**

#### **1.8.2.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Salvia* (*Salvia* spp)**

<b>REINO</b>	Plantae
<b>DIVISIÓN</b>	Tracheobionta
<b>CLASE</b>	Magnoliophyta
<b>SUBCLASE</b>	Magnoliopsida
<b>ORDEN</b>	Asteridae
<b>FAMILIA</b>	Lamiales
<b>SUBFAMILIA</b>	Lamiaceae
<b>TRIBU</b>	Nepetoideae
<b>GÉNERO</b>	<i>Salvia</i>
<b>ESPECIE</b>	<i>Salvia</i> (S.spp)

#### **1.8.2.2 Características generales.**

**Tipo:** Planta subarborescente perenne

**Parte medicinal utilizada:** Las hojas sumidades floridas.

**Etimología del nombre científico:** El término *Salvia* proviene de la palabra latina “salvare”, que significa “curar”. (37).

#### **1.8.2.3 Componentes importantes.**

**Aceites esenciales: hasta un 2,5%**

- Thuyona
- salveno
- borneol
- delta-alcanfor
- alfa y beta pineno
- cineol
- acetatos de bornilo y linalino
- picrosalvina

### Flavonoides.

- Glucósidos de luteolina y apigenina
- Esteroles vegetales (beta-sistorina)

### Principios amargos

- Picrosalvina
- principio amargo diterpénico
- ácido labiático
- ácido clorogénico
- p-cumárico
- ácido oleánico
- **ácido ursólico**
- germánico
- ácido fumárico
- ácido cafeico
- ácido nicotínico

### Resinas

### Taninos (37)

#### 1.8.2.4 Especies

#### CLASIFICACIÓN DE ESPECIES DE SALVIA

<i>Salvia adiantifolia</i> E.Peter	<i>Salvia adoxoides</i> C.Y.Wu	<i>Salvia aerea</i> H.Lév.
<i>Salvia aethiopsis</i> L.	<i>Salvia alatipetiolata</i>	<i>Salvia amissa</i> Epling
<i>Salvia apiana</i> Jeps.	<i>Salvia appendiculata</i> E.Peter	<i>Salvia argentea</i> L.
<i>Salvia arizonica</i> Gray	<i>Salvia atropurpurea</i> C.Y.Wu	<i>Salvia atrorubra</i> C.Y.Wu
<i>Salvia azurea</i> Michx.	<i>Salvia baimaensis</i> S.W.Su & Z.A.Shen	<i>Salvia ballotiflora</i> Benth.
<i>Salvia bifidocalyx</i>	<i>Salvia blodgettii</i> Chapm.	<i>Salvia bowleyana</i>
<i>Salvia brachyloma</i>	<i>Salvia brandegeei</i> Munz	<i>Salvia brevicconnectivata</i>

<i>Salvia brevilabra</i>	<i>Salvia bulleyana</i>	<i>Salvia campanulata</i>
<i>Salvia carduacea</i> Benth.	<i>Salvia castanea</i>	<i>Salvia cavaleriei</i>
<i>Salvia chapmanii</i> Gray	<i>Salvia chienii</i>	<i>Salvia chinensis</i>
<i>Salvia chunganensis</i>	<i>Salvia cinnabarina</i>	<i>Salvia clevelandii</i> Greene
<i>Salvia cocuyana</i> Fern.Alonso	<i>Salvia coccinea</i> P.J.Buchoz	<i>Salvia columbariae</i> Benth
<i>Salvia cyclostegia</i>	<i>Salvia cynica</i>	<i>Salvia dabieshanensis</i>
<i>Salvia davidsonii</i> Greenm.	<i>Salvia deserta</i>	<i>Salvia digitaloides</i>
<i>Salvia divinorum</i> Epling & Jativa	<i>Salvia dolichantha</i> Whitehouse	<i>Salvia dorrii</i> Abrams
<i>Salvia elegans</i>	<i>Salvia engelmannii</i> Gray	<i>Salvia eremostachya</i> Jeps.
<i>Salvia evansiana</i>	<i>Salvia farinacea</i> Benth.	<i>Salvia filicifolia</i>
<i>Salvia fragarioides</i>	<i>Salvia fruticosa</i> Mill.	<i>Salvia funerea</i> M.E.Jones
<i>Salvia gachantivana</i> Fern.Alonso	<i>Salvia glutinosa</i> L.	<i>Salvia grandifolia</i>
<i>Salvia greatae</i> Brandeg.	<i>Salvia greggii</i> Gray	<i>Salvia guaranitica</i> J.St.-Hil. ex. Benth.
<i>Salvia handelii</i>	<i>Salvia hayatae</i>	<i>Salvia henryi</i> Gray
<i>Salvia heterochroa</i>	<i>Salvia hians</i> Royle ex Benth.	<i>Salvia himmelbaurii</i>
<i>Salvia hispanica</i> L.	<i>Salvia honania</i>	<i>Salvia horminum</i> L.
<i>Salvia hupehensis</i> Stibal	<i>Salvia hylocharis</i>	<i>Salvia japonica</i>
<i>Salvia kiangsiensis</i>	<i>Salvia kiaometiensis</i>	<i>Salvia lankongensis</i>
<i>Salvia lemmonii</i> Gray	<i>Salvia leptophylla</i> Benth.	<i>Salvia leucophylla</i> Greene
<i>Salvia liguliloba</i> Sun & Migo	<i>Salvia longistyla</i> Benth.	<i>Salvia lycioides</i> Gray
<i>Salvia lyrata</i> L.	<i>Salvia mairei</i> H.Lév.	<i>Salvia maximowicziana</i>
<i>Salvia meiliensis</i> S.W.Su	<i>Salvia mekongensis</i>	<i>Salvia mellifera</i> Greene
<i>Salvia micrantha</i> Vahl	<i>Salvia microphylla</i> Benth.	<i>Salvia miltiorrhiza</i>
<i>Salvia misella</i> Kunth	<i>Salvia mohavensis</i> Greene	<i>Salvia munzii</i> Epling
<i>Salvia nanchuanensis</i>	<i>Salvia nemorosa</i> L.	<i>Salvia nipponica</i>
<i>Salvia nubicola</i>	<i>Salvia nutans</i> L.	<i>Salvia occidentalis</i> Sw.
<i>Salvia officinalis</i> L.	<i>Salvia omeiana</i>	<i>Salvia orthostachys</i> Epling

<i>Salvia paohsingensis</i>	<i>Salvia pachyphylla</i> Epling	<i>Salvia paramiltiorrhiza</i>
<i>Salvia parryi</i> Gray	<i>Salvia pauciflora</i>	<i>Salvia penstemonoides</i> Kunth & Bouché
<i>Salvia piasezkii</i>	<i>Salvia pinguifolia</i> Woot. & Standl.	<i>Salvia plebeia</i> R.Br.
<i>Salvia plectranthoides</i>	<i>Salvia pogonochila</i> Diels	<i>Salvia polystachya</i> Ort.
<i>Salvia potaninii</i>	<i>Salvia potus</i> Epling	<i>Salvia pratensis</i> L.
<i>Salvia prattii</i> Hemsl.	<i>Salvia prionitis</i>	<i>Salvia procurrens</i>
<i>Salvia przewalskii</i>	<i>Salvia qimenensis</i>	<i>Salvia reflexa</i> Hornem.
<i>Salvia regla</i> Cav.	<i>Salvia riparia</i> Kunth	<i>Salvia roborowskii</i>
<i>Salvia roemeriana</i> Scheele	<i>Salvia scapiformis</i>	<i>Salvia schizocalyx</i>
<i>Salvia schizochila</i>	<i>Salvia sclarea</i> L.	<i>Salvia serotina</i> L.
<i>Salvia sikkimensis</i>	<i>Salvia sinica</i>	<i>Salvia smithii</i>
<i>Salvia sonchifolia</i>	<i>Salvia sonomensis</i> Greene	<i>Salvia spathacea</i> Greene
<i>Salvia splendens</i> Sellow	<i>Salvia subincisa</i> Benth.	<i>Salvia subpalmatinervis</i>
<i>Salvia substolonifera</i>	<i>Salvia summa</i> A.Nels.	<i>Salvia texana</i> Torr.
<i>Salvia thomasiana</i> Urban	<i>Salvia tiliifolia</i> Vahl	<i>Salvia tricuspis</i>
<i>Salvia trijuga</i>	<i>Salvia umbratica</i>	<i>Salvia urticifolia</i> L.
<i>Salvia vaseyi</i> Parish	<i>Salvia vasta</i>	<i>Salvia verbenaca</i> L.
<i>Salvia verticillata</i> L.	<i>Salvia vinacea</i> Woot. & Standl.	<i>Salvia wardii</i>
<i>Salvia weihaiensis</i>	<i>Salvia xeropapillosa</i> Fern.Alonso	<i>Salvia yunnanensis</i>

#### 1.8.2.5 Origen y distribución

*Salvia* crece en sitios rocosos y secos, se considera originaria de las regiones mediterráneas, en donde se obtiene buena parte de su esencia. Pero es ahora cultivada en muchos lugares alrededor del mundo. (37)

#### 1.8.2.6 Descripción botánica.

Perteneciente a la familia de las labiadas, arbusto de unos 60 cm de altura. El tallo es recto, cuadrangular y leñoso, hojas pecioladas simples, oblongas o lanceoladas y estrechas en la base de color verde grisáceo, flores labiadas de color blanco, rosa o violeta pálido, aroma fuerte claro, herbáceo y penetrante, suele emplearse en perfumes masculinos. (29)

#### **1.8.2.7 Parte terapéutica.**

En el caso de las hojas secas de la salvia son ideales para aliviar dolores de garganta, calman los trastornos comunes de la menopausia y para destetar al bebé, las hojas frescas, ayudan a estimular el aparato digestivo, su raíz se emplea para estimular el sistema circulatorio cuando se padecen dolores menstruales y problemas cardíacos. (35)

#### **1.8.2.8 Actividad terapéutica:**

**Bactericidas:** Contra las afecciones respiratorias en general, garganta, gripe, etc. (19)

**Cicatrizante y bactericida;** (úlceras, cortes, heridas, etc) para sanar las heridas y las úlceras, favoreciendo la cicatrización o impidiendo que esta herida pudiera infectarse. (19)

**Emenagogo:** Rebaja ligeramente los dolores de la menstruación y facilita el vaciado. (19)

**Hipoglucemiante:** Su uso disminuye la cantidad de azúcar en la sangre. (19)

**Relajante muscular:** Muy útil como relajante muscular, en dolores producidos por estiramientos o esfuerzos demasiado grandes sin preparación previa. (19)

**Bucal:** Se puede realizar enjuagues bucales para fortalecer las encías. También podemos utilizar las hojas frescas para frotar las encías y los dientes y conseguir el mismo resultado.(19)

**Mal olor:** Reduce la sudoración excesiva por lo que resulta útil para combatir el mal olor corporal. (19)

**Canas:** esta planta se utiliza como uno de los tintes naturales para el cabello. (19)

#### **1.8.2.9 Contraindicaciones e interacciones.**



No se debe utilizar por periodos prolongados de tiempo, puede interferir con terapias hipoglicemiantes, anticonvulsivantes y potenciar el efecto sedante de otras drogas. (18).

1.8.2.10 **Pumín** (*Salvia squalens*).



FUENTE: <http://www.flickr.com/photos/salvias/2413872741/>

FOTOGRAFÍA N° 2 PUMÍN (*Salvia squalens*)

Es originaria del Perú y Ecuador, es muy extraña, florece todo el año; es muy aromática, su follaje externo es muy rígido, crecen en lugares apartados de otras plantas ya que solo se reproducen en suelos rocosos, su nombre se debe a que “squalens” significa sucio ya que su follaje es muy pegajoso donde atrapa a los insectos. (18)

1.8.3 *Justicia chlorostachya* (40)

**Nombre vulgar:** Insulina, riñonera

**Nombre científico:** *Justicia chlorostachya*

**Familia:** Acanthaceae

Parte usada: hojas, con uso etnobotánicas además de colorantes para bajar el azúcar en la sangre. (40)

1.8.5.5. **Insulina vegetal** (*Justicia chlorostachya*)



FUENTE: <http://www.infojardin.com/foro/showthread.php?t=202182>

**FOTOGRAFÍA. N°3 INFLORESCENCIA DE *Justicia chlorostachya***

#### **1.8.5.6. Historia de la insulina vegetal**

Planta nativa del oriente ecuatoriano, utilizada comúnmente para tratar desórdenes glicémicos en pacientes con diabetes su descripción botánica es la siguiente:

**Parte usada:** Partes aéreas, hojas y tallos. Con usos hipoglucemiantes.

#### **1.8.5.7. Usos etnobotánicos ancestrales**

Usos etnobotánicos de plantas del género *Justicia*. El género *Justicia* que también es identificado como Jacobinia, incluye a plantas perennes nativas de América tropical de hojas verdes ovaladas, con los nervios bien marcados y con flores tubulares rosas, naranjas o rojo pálido. Pertenece a la familia Acanthaceae con más de 600 especies reconocidas.

Esta planta ya se utilizaba desde tiempos prehispánicos para problemas relacionados con el flujo menstrual, disentería, contra la sarna y como estimulante; en la actualidad, tiene un uso ritual en comunidades indígenas de la huasteca que consiste en bañar con al agua macerada de la planta a un niño recién nacido cuando cumple siete días; los demás asistentes también deben realizarlo. A esta ceremonia se le conoce como “baño de los siete días”. (14)

Probablemente sea relacionado al uso que se le da a la planta de purificador de la sangre. Recordemos que la Medicina indígena se ocupa no solo de los padecimientos físicos sino además de los espirituales que, en nuestra época tiene mucho que ver con todos los padecimientos ahora ya comunes con que vivimos día a día. El principal uso que le damos en Microdosis es para la anemia y para fortalecer al sistema inmunológico. (14)

#### **1.8.5.8. Cuidados y cultivo:**

#### **1.8.5.9. Cuidados**

Mucha luz filtrada o a pleno sol, pero protegida del sol más intenso. Temperatura ambiental normal con un período de reposo de 13° C a partir del final de la floración hasta que aparezca la nueva vegetación. Mantenga el sustrato húmedo pero sin saturarlo en la época de crecimiento. Riegue menos el período de reposo. (38)

Si se supera los 13° C, coloque la maceta en una bandeja con piedras mojadas para conservar la humedad. Aplique un fertilizante líquido normal cada 2 semanas a la planta en crecimiento activo. Conservación: Corte las yemas terminales con regularidad para que la planta siga arbustiva. Sustitúyala por un esqueje arraigado cuando se disperse, por lo general después de 2 años. (38)

#### **1.8.5.10. Cultivo**

En países con las cuatro estaciones en primavera mediante estancamiento de los tallos.

#### **1.8.5.11. Composición química y actividad farmacología del género *Justicia*:**

El género *Justicia* ha sido objeto de una considerable preocupación por los químicos. Entre los constituyentes más importantes se ha identificado la presencia de lignanos y saponinas con posibles efectos inhibidores de la fertilidad en las mujeres. El naphthalide lignano se ha asociado con actividad antidepresiva y antiarrítmica. En algunas especies se han aislado varias aminas aromáticas, kaempferol, esteroides, ácido salicílico y alcohol alifático. Los estudios

químicos del género *Justicia* son todavía incipientes en relación con su uso como alucinógeno; algún trabajo ha reportado la presencia de tryptaminas. Los análisis preliminares de *Justicia pectoralis* demuestran la presencia de esteroides, mucílagos y un aceite esencial. (35). En la Amazonía venezolana los "curiosos" o curanderos emplean las hojas de "camaguari" en forma de tabaco en sus ceremonias curativas (Delascio, 1984). Los indígenas del Vaupés y el Alto Amazonas utilizan la decocción de toda la planta en las afecciones pulmonares y especialmente en las neumonías; también la consideran como un buen expectorante. Entre los Andokes del río Caquetá esta planta es muy importante en las prácticas curativas siendo empleada en el tratamiento de varias enfermedades. *J. pectoralis* var. *stenophylla* forma parte de las mezclas de drogas alucinógenas Empleadas por varios grupos indígenas de la Amazonía, especialmente por los Waika o Yanomami de Venezuela y Brasil. (14)

#### **1.8.4 *Arcytophyllum thymifolium*:**

**Reino:** Plantae

**Subreino:** Viridaeplantae

**Filo:** Tracheophyta

**Subfilo:** Spermatophytina

**Infrafilo:** Angiospermae .

**Clase:** Magnoliopsida

**Orden:** Rubiales

**Familia:** Rubiaceae

**Género:** *Arcytophyllum*

**Especie:** *thymifolium*

**1.8.4.1 Nombre botánico:** *Arcytophyllum thymifolium* (11)

1.8.4.2 **Nombres vernáculos:** Chisag, Morlán blanco, Quizac.

Rubiaceae son árboles, arbustos, o rara vez hierbas que comprende alrededor de 450 géneros y 6.500 especies , incluyendo algunas formas lianous. (8)



FUENTE: [http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora\\_id=201&taxon\\_id=102508](http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=201&taxon_id=102508)

**FOTOGRAFÍA N° 4. *Arcytophyllum thymifolium***

Se trata de arbustos o sufrútices erectos, postrados o formando almohadillas. Con estípulas persistentes, envainadoras, triangulares o escutiformes, simples o con proyecciones digitiformes, glabras o con papilas pustuliformes. (8)

Poseen hojas pequeñas, sésiles o subsésiles, coriáceas, nervación secundaria inconspicua. Inflorescencia terminal, una flor solitaria, una cima umbeliforme o un dicasio compuesto. Flores tetra o pentámeras; hipanto ovoide, disco carnosos; cáliz lobulado, con dientes intercalicinos persistentes; corola infundibuliforme o hipocrateriforme, blanca o rosada, tubo glabro, lóbulos valvados en el botón; estambres adnatos al tubo de la corola, anteras dorsifijas; ovario bilocular, pocos óvulos en placentas unidas al septo, estilo delgado, estigma bífido. Cápsula con dehiscencia septicida, coronada por los sépalos y dientes intercalicinos. (8)

El género *Arcytophyllum* consta de 15 especies distribuidas en las montañas de Costa Rica y Panamá, en los Andes desde Venezuela hasta Bolivia. El Ecuador es el país con mayor diversidad, con 10 especies distribuidas entre 2500 y 4000 m; tres son sufrutícolas y forman almohadillas y siete son arbustivas: *Arcytophyllum capitatum*, *A. ciliolatum*, *A. ericoides*, *A. rivetii*, *A. setosum*, *A. thymifolium*, *A. vernicosum*. (8)

### **1.8.5 *Dalea mutisii* (ISO)**

**Nombre Científico:** *Dalea mutisii*

**Familia:** Papilionaceae

**Nombre Común:** Dalea, Iso

#### **1.8.5.1 Descripción**

Arbusto bajo de ramitas tendidas de 20 a 60 cm de largo, levantadas en los extremos y terminadas en una inflorescencia con forma de espigas cortas y apretadas, de unos 8 cm de largo de un intenso color azul. Hojas compuestas, foliolos oblongos verde oscuro grisáceo. Flores con las alas y quilla, azules, el pétalo superior o estandarte es blanco. Fruto una legumbre pilosa con solo una semilla (raramente 2). Florece desde mediados de septiembre a noviembre. Fructifica de fines de septiembre a fines de noviembre.

#### **1.8.5.2 Hábitat**

Crece en el fondo de las quebradas sobre afloramientos rocosos, nunca sobre coluvios o rellenos, utilizando grietas que incluso en ocasiones comparte con cactáceas y otras especies, Es una especie nativa de Chile que se encuentra en peligro de extinción.

Especie muy amenazada, corre un fuerte riesgo de extinción debido a su bajo número poblacional. Actualmente se ha encontrado sólo en dos quebradas, con no más de doscientos ejemplares en total. Presente en la Quebrada Peralito, con su población más grande, la que posee unos 180 ejemplares. Una segunda población está presente en la quebrada “La Plata”, donde existen sólo 17 ejemplares en estado muy precario (Banco Base de Semillas, datos no publicados).

Por lo demás, el hábitat escogido por la especie, posee naturaleza catastrófica, presentando en años lluviosos fuertes riadas que destruyen la vegetación y modifican la forma de la quebrada.



FUENTE: <http://www.plantsystematics.org/taxpage/0/genus/Dalea.html>

FOTOGRAFÍA. N° 5. HOJAS *Dalea mutissi* (ISO)

### 1.8.5.3 Estado de conservación

Recientemente fue clasificada según el Reglamento para la Clasificación de Especies Silvestres (RCE), como En Peligro y Rara (criterios EN B1ab(iii)+2ab(iii); C2a(ii)). Cabe señalar bajo los criterios establecidos por UICN, debiera clasificarse como En Peligro Crítico (CR C2a(ii)), pero nuestra legislación no reconoce esta categoría.

Actualmente esta especie no se encuentra incluida dentro del Sistema de Áreas Silvestres Protegidas del Estado (SNASPE), ni otro sistema de conservación In situ, esto hace que su

condición actual sea más riesgosa a la extinción. Esta situación que se ve agravada por la constante presencia de ganado caprino, además de burros y ovejas que continuamente se encuentran pastando en la zona.

Esta especie ha sido considerada en un plan de conservación Ex situ desarrollado por INIA, con el apoyo del Royal Botanic Gardens de Kew de Reino Unido y Rio Tinto Plant for Life. Este programa contempla propagación, cultivo, incrementos en semillas y conservación de semillas en bancos de semillas.

#### **1.8.5.4 Propagación**

Puede ser propagada por semillas presentando mínimas dificultades en su germinación. Al igual que la mayoría de las leguminosas, sus semillas poseen una cubierta dura e impermeable que es fácilmente vencida con cualquier técnica de escarificación, ya sea de manera mecánica o química. Si se realiza escarificación química se aconseja un corto tiempo de exposición ya que su latencia es bastante leve, que incluso puede ser vencida con un período de almacenamiento en frío (Banco Base de Semillas, datos no publicados).

Puede ser además propagada vegetativamente, ya que estacas sin lignificar forman rápidamente raíces, sin requerir de la aplicación de hormonas. Con un poco más de dificultad son enraizadas estacas más lignificadas, pero es igualmente posible. En ambos casos la aplicación de hormonas no mejora el enraizamiento, por lo que no se aconseja el uso de ellas (Banco Base de Semillas, datos no publicados).

#### **1.8.5.5 Manejo y desarrollo de las plantas**

Las plántulas tienen buen crecimiento, aunque debe ser considerada la importancia de la asociación simbiótica que posee la especie con microorganismos, ya que en ausencia de nódulos radiculares, el desarrollo de las plantas se ve limitado. Se obtiene floración en la primera temporada, comenzando a florecer las primeras plantas a los seis meses de edad, en condiciones de invernadero (Banco Base de Semillas, datos no publicados).





FUENTE: <http://www.plantsystematics.org/taxpage/0/genus/Dalea.html>

**FOTOGRAFÍA. N° 6. Flores *Dalea mutissi* (ISO)**

Cabe señalar que en condiciones de cultivo las plantas pueden permanecer verdes todo el año, incluso bajo invernadero la floración también es constante. Aunque si el riego es suprimido la planta responde abortando rápidamente los botones florales. Como práctica de cultivo se aconseja realizar algunas podas en las ramas secas y quebradizas, que sólo poseen algunos brotes distales, esto estimula la aparición de nuevos brotes más vigorosos (Banco Base de Semillas, datos no publicados).

En cultivo, se observan algunas plagas atacando a las plantas, principalmente chanchito blanco, quien se ubica en flores y frutos, dada su pubescencia es un excelente lugar para ocultarse. Cuando el ataque es mayor puede llegar también a brotes nuevos y yemas axilares.

Otra plaga recurrente es arañita bimaclada, quien se observa en el en vez de las hojas. Ambos pueden controlarse químicamente sin problemas en las plantas, respetando las bajas dosis de producto. Cabe señalar que en la población natural también fueron observados algunos ataques de chanchito blanco, así como plantas parasitadas por *Cuscuta* sp. (Banco Base de Semillas, datos no publicados).

#### **1.8.5.6 Polinización**

Dalea requiere de vectores para su polinización, flores aisladas no tienen la capacidad de autopolinizarse. Al parecer la especie no posee impedimentos o barreras genéticas a la autopolinización, ya que si es polinizada con su mismo polen, es capaz de formar semillas sin problema. La defensa a la autopolinización sería más bien morfológica ya que sus anteras permanecen encerradas por sus pétalos mientras el estilo emerge para ser polinizado, aunque en sus visitas las abejas abren las flores por lo que igualmente la autopolinización natural también parece posible (Banco Base de Semillas, datos no publicados).

En cultivo el principal visitante de las abundantes flores son las abejas, quienes gran parte del año están presentes en el invernadero, aunque se han registrado visitas esporádicas de otros polinizadores como picaflores y mariposas (Banco Base de Semillas, datos no publicados).

#### **1.8.5.7 Usos potenciales**

Sus inflorescencias azules a moradas parecen ser su principal atractivo, aunque su hermoso follaje posee también alto valor ornamental. En plantas de cultivo ha sido posible apreciar variaciones en la tonalidad de sus flores, obteniéndose plantas muy claras, prácticamente lilas, hasta el morado típicamente conocido, incluso más intenso (Banco Base de Semillas, datos no publicados).



FUENTE: <http://www.plantsystematics.org/taxpage/0/genus/Dalea.html>

**FOTOGRAFÍA. N° 7. FLORECIMIENTO *Dalea mutissi* (ISO)**

**1.8.6 *Artemia salina***

**Reino:** Animalia

**Filo:** Arthropoda

**Subfilo:** Crustácea

**Clase:** Branchiopoda

**Orden:** Anostraca

**Familia:** Artemiidae

**Género:** *Artemia*

**Especie:** *A. salina*

*Artemia salina* es una especie de crustáceo branquiópodo del orden Anostraca propia de aguas continentales de distribución cosmopolita.(44)



FUENTE: [http://www.naturamediterraneo.com/forum/topic.asp?TOPIC\\_ID=11081](http://www.naturamediterraneo.com/forum/topic.asp?TOPIC_ID=11081)

**FOTOGRAFÍA N°8 *Artemia salina***

#### **1.8.6.1. Historia natural**

#### **1.8.6.2. Criptobiosis**

Los huevos pueden permanecer metabólicamente inactivos durante largos períodos (incluso de 10 años) en condiciones de total ausencia de agua y oxígeno, y a temperaturas por debajo del punto de congelación. Esta característica inusual es llamada criptobiosis o diapausa; una vez el entorno es adecuado, la eclosión puede comenzar transcurridas las primeras ocho horas.(44)

El adulto alcanza un centímetro de largo en promedio, y su vida media es de un año. Este rápido desarrollo, y la habilidad de sus huevos para soportar largos períodos en condiciones

desfavorables, la hacen un modelo invaluable en investigaciones biológicas, algunas incluso desarrolladas en el espacio exterior. Un conocido y repetido experimento escolar consiste en estudiar la variación de las condiciones de salinidad del ambiente en el desarrollo de las larvas de *Artemia*.(44)

#### **1.8.6.3. Alimentación**

Al eclosionar, las larvas nauplio tienen menos de 500 micras ( $5 \times 10^{-4} \text{m}$ ). Se alimentan de fitoplancton, en especial algas de los géneros *Chlamydomonas*, *Tetrahedron* y *Dunaliella*. En laboratorios y acuarios se les suele suministrar harinas de pescado, maíz o soya, y también se suele utilizar la clara de huevo.(44)

#### **1.8.6.4. Uso en acuarofilia**

Las propiedades nutricionales de este crustáceo, particularmente en sus primeros estadios las hacen muy adecuadas para su empleo en acuarofilia como alimento vivo para alevines y peces pequeños. Son ricas en lípidos y ácidos grasos insaturados, aunque según el estadio, pueden contener más o menos contenido de calcio. Sin embargo, no deja de ser un excelente alimento para todo tipo de peces e invertebrados, promoviendo su pigmentación y un buen estado de salud.

En general, la artemia que se usa en acuicultura o acuarofilia, es *Artemia franciscana*, la cual se vende en forma de quistes que necesitan ser eclosionados, o bien como alimento vivo, ya sea en forma de nauplios de *Artemia* o como individuos adultos de aproximadamente 1 cm de longitud. En algunas tiendas de animales se pueden comprar en estado vivo. En España existen algunos centros o laboratorios que se dedican a su cultivo.(44)

### 1.8.7. RADICAL (QUÍMICA)

En química, un **radical** (antes referido como **radical libre**) es una especie química (orgánica o inorgánica), en general es extremadamente inestable y, por tanto, con gran poder reactivo por poseer un electrón desapareado.(15)

No se debe confundir con un grupo sustituyente, como un grupo alquilo, que son partes de una molécula sin existencia aislada.(15)

Poseen existencia independiente aunque tengan vidas medias muy breves, por lo que se pueden sintetizar en el laboratorio, se pueden formar en la atmósfera por radiación y también, se forman en los organismos vivos (incluido el cuerpo humano) por el contacto con el oxígeno y actúan alterando las membranas celulares y atacando el material genético de las células, como el ADN.(15)

Los radicales tienen una configuración electrónica de capas abiertas por lo que llevan al menos un electrón desapareado que es muy susceptible de crear un enlace con otro átomo o átomos de una molécula. Desempeñan una función importante en la combustión, en la polimerización, en la química atmosférica, dentro de las células y en otros procesos químicos.(15)

Para escribir las ecuaciones químicas, los radicales frecuentemente se escriben poniendo un punto (que indica el electrón impar) situado inmediatamente a la derecha del símbolo atómico o de la fórmula molecular como:



Esto se deriva de la notación de Lewis.

#### 1.8.7.1. Tipos de radicales

##### 1.8.7.1.1. Según el número de átomos (15)

Los radicales pueden ser:

- monoatómicos, como el radical cloro  $\text{Cl}\cdot$ , el radical bromo  $\text{Br}\cdot$ , o el radical hidrógeno  $\text{H}\cdot$ , que son simplemente átomos o iones con un número impar de electrones.
- poliatómicos, formados por más de un átomo, como el radical metilo,  $\text{CH}_3\cdot$

#### **1.8.7.1.2. Según el átomo central que posee el electrón impar**

Dependiendo de cuál sea el átomo central que posee el electrón desapareado, los radicales pueden ser:

Radicales centrados en el carbono: como un radical alquilo (por ejemplo, el radical metilo  $\cdot\text{CH}_3$ ), o un radical arilo. Dentro de los radicales centrados en C conviene distinguir, según sea el carbono que porta el electrón desapareado, entre radicales primarios (como el radical metilo  $\text{CH}_3\cdot$ ), radicales secundarios (como el radical); y radicales terciarios (como el radical trifenilmetilo). Los radicales terciarios son más estables que los secundarios, y éstos a su vez, son más estables que los primarios. (15)

- Radicales centrados en el nitrógeno: como el radical nitrato  $\cdot\text{NO}_3$
- Radicales centrados en el oxígeno: como el radical hidroxilo  $\cdot\text{OH}$ , muy reactivo.
- Radicales centrados en átomo de halógeno: como el radical cloro  $\text{Cl}\cdot$
- Radicales centrados en átomo de metal: como el radical  $\cdot\text{SnH}_3$

#### **1.8.7.2. Según la carga (15)**

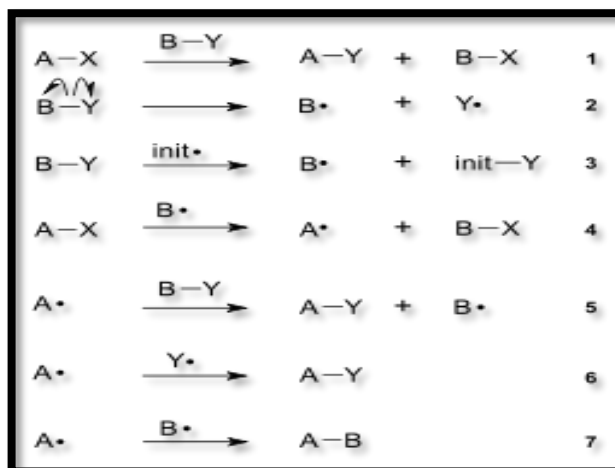
Los radicales pueden ser neutros, aniónicos o catiónicos, según que no posean carga; o que ésta sea negativa o positiva.

#### **1.8.7.3. Reacciones radicalarias**

Son reacciones en las que intervienen radicales, generalmente como estados intermedios como por ejemplo, la halogenación radicalaria de alcanos.(15)

#### **1.8.7.4. Mecanismo general de una sustitución radicalaria**

FIG. N° 1.MECANISMO GENERAL DE UNA REACCIÓN DE SUSTITUCIÓN RADICALARIA.



FUENTE: McMURRY, J. 2006

Las reacciones en las que intervienen radicales libres se llaman reacciones radicalarias. Se dividen normalmente en tres fases: *iniciación*, *propagación* y *terminación*.(15)

La reacción global de sustitución mostrada en la ecuación 1 se puede descomponer en los siguientes procesos: (15)

**1.8.7.4.1. Reacciones de iniciación** Son las reacciones que producen un aumento en el número de radicales libres.

- La ecuación 2 corresponde a una ruptura homopolar provocada por termólisis o fotólisis.
- La ecuación 3 corresponde a una ruptura favorecida por un radical iniciador

**1.8.7.4.2. Reacciones de propagación:** Se producen reacciones entre radicales. Corresponde a las etapas 4 y 5.

**1.8.7.4.3. Reacciones de terminación:** Finalmente, se recombinan los radicales para formar moléculas más estables. Corresponde a las etapas 6 y 7.



#### **1.8.7.5. Producción de radicales en seres vivos**

Los radicales se producen en la respiración con la presencia de oxígeno que aunque es imprescindible para la vida celular de nuestro organismo, también induce la formación de éstas moléculas reactivas, que provocan a lo largo de la vida efectos negativos para la salud debido a su capacidad de alterar el ADN (los genes), las proteínas y los lípidos o grasas ("oxidación"). En nuestro cuerpo existen células que se renuevan continuamente como las células de la piel, del intestino, y el hígado, y otras sin capacidad de renovación como las neuronas. En el transcurso de los años, los radicales libres pueden producir una alteración genética sobre las células que se dividen continuamente contribuyendo a aumentar el riesgo de cáncer por mutaciones genéticas o bien, disminuyen la funcionalidad de las células que no se dividen tanto, disminuyendo el número de mitocondrias, que es característico del envejecimiento. (15)

Las situaciones que aumentan la producción de radicales libres son:

- La contaminación ambiental.
- El tabaquismo.
- Las dietas ricas en grasas.
- Exposición excesiva a las radiaciones solares.
- La ingesta de aceites "vegetales" que fueron refinados ya que estos contienen radicales libres al ser sometidos a altas temperaturas.
- El estrés.

#### **1.8.8. IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES**

La importancia de los antioxidantes reside en que retrasan y aminoran los efectos ocasionados por el paso del tiempo y el aumento de los radicales libres que oxidan las células provocando envejecimiento y diferentes enfermedades. Son fuente de juventud que retrasa el

envejecimiento. Concretamente son sustancias contenidas en algunos alimentos actuando contra los radicales libres.(42)

Los **radicales libres son moléculas que oxidan las células causando el envejecimiento y provocando enfermedades** muy diversas. Asimismo el organismo puede enfrentarlos a partir de las enzimas pero cuando los radicales libres son excesivos, el organismo se encuentra incapaz de hacerles frente como por ejemplo ante la presencia del tabaquismo, el consumo abundante de grasas y la exposición a la radiación del sol entre muchos otros factores.(42)

En estas situaciones es **importante el consumo de alimentos antioxidantes que se encuentran en las vitaminas C, E, A y minerales** como el zinc y el selenio por lo que las personas que consumen habitualmente alimentos ricos en estas vitaminas y minerales tienen menor probabilidad de envejecimiento celular y de padecer ciertos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares, además, fortalecen el sistema inmunitario y conservan una mejor visión.(42)

Si bien los antioxidantes tienen mucha importancia para fortalecer al organismo no previenen enfermedades en concreto ya que su ingesta habitual no cambia el desgaste natural del organismo hacia la vejez.(42)

Detalladamente la vitamina C es una de las **principales fuentes de antioxidantes porque refuerza las defensas, previene el envejecimiento** prematuro, la artrosis, enfermedades pulmonares y cataratas.(42)

- La vitamina E, brinda protección contra el cáncer gastrointestinal y pulmonar.
- La vitamina C se encuentra en el brócoli, repollo, limones frambuesas y naranjas.
- La vitamina E, se encuentra en avellanas, almendras, cereales integrales y verduras de hojas.
- La vitamina A, se encuentra en la calabaza, el tomate, la zanahoria y el damasco.
- El selenio, se encuentra en mariscos, pescados, lácteos y huevos.
- El zinc, se encuentra en mariscos, carnes rojas y cereales integrales.

Cualquier persona puede ser capaz de ingerir antioxidantes por medio de la ingesta de la gran variedad de alimentos aunque a veces pueden ser necesarios suplementos dietarios, que es cierto que son útiles pero siempre que sean recomendados por el médico. Los antioxidantes son sustancias que no cumplen el papel común de aporte de energía sino que son componentes de alimentos con un valor agregado para la salud al neutralizar el efecto del oxígeno en el organismo. (42)

#### **1.8.8.1. Selección de microorganismos**

La selección de los microorganismos a utilizarse en el ensayo depende en gran parte del propósito de la investigación. Si ésta es de carácter general, los organismos seleccionados deberán ser tan diferentes como sea posible y de preferencia representantes de un grupo importante según su composición física y química y patrón de resistencia. (24).

#### **1.8.8.2. Medio de cultivo**

.Se utilizará una solución salina al 0,9% para el crecimiento de nuestro organismo.

#### **1.8.8.3. Determinación de citotoxicidad de extractos obtenidos**

Para la determinación de citotoxicidad el primer paso es el conteo de las larvas muertas en cada extracto y cada blanco, se corrigen las mortalidades mediante la fórmula de Abbott y paralelamente se utiliza otra corrección que se basa en el porcentaje de supervivencia de los individuos, esta corrección es utilizada en algunos procedimientos encontrados. Las fórmulas de estas correcciones son las siguientes:

$$M = \frac{m_e - m_b}{1 - m_b} \quad (\text{Fórmula de Abbott}) \quad (\text{Eq. 1})$$

Donde:

M = Mortalidad.

me = mortalidad en el extracto.

$m_b$  = mortalidad en el blanco.

$$m_e = \frac{r}{n} \text{ (Eq. 2)} \quad m_b = \frac{r'}{n} \text{ (Eq. 3)}$$

$r$  = Nauplios muertos en el extracto.

$r'$  = Nauplios muertos en el blanco.

$n$  = Número de individuos.

Como el número de individuos es constante (10 en este caso):

$$\%M = \frac{(m_e - m_b)}{(10 - m_b)} \times 100 \text{ (Eq. 4)}$$

La otra corrección utilizada es la siguiente:

$$S = \frac{(s' - r)}{s'} \text{ (Eq. 5)}$$

Donde:

$S$  = supervivencia

$s'$  = Nauplios vivos en el blanco

Mortalidad = 1 - Supervivencia (Eq. 6)

Igualando las dos ecuaciones anteriores:

$$\%M = \frac{r}{s'} \times 100 \quad (\text{Eq. 7})$$

## CAPÍTULO II

### **2. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **2.1 LUGAR Y PRUEBAS DE ENSAYO.**

La presente investigación se desarrolló en: Laboratorios de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

#### **2.2 RECURSOS MATERIALES**

##### **2.2.1 MATERIALES VEGETALES Y BIOLÓGICOS.**

###### **2.2.1.1 Extractos fluidos vegetales**

- Extracto fluido de *Arcytophyllum thymifolium*
- Extracto fluido de *Salvia squalens*
- Extracto fluido de *Justicia chlorostachya*
- Extracto fluido de *Myrcianthes rhopaloides*
- Extracto fluido de *Dalea mutisii*

###### **2.2.1.2 Materiales:**

- Termómetro
- Embudo
- Probeta
- Piseta

- Pipetas
- Tubos de ensayo
- Reverbero
- Cápsula de porcelana
- Crisol
- Balones aforados
- Pinza para cápsula
- Pinza de tubos
- Pecera
- Malla de plástico
- Lámpara
- Bomba de aire para pecera

### **2.2.1.3 Material biológico**

- *Artemia salina*

### **2.2.2 EQUIPOS**

- Espectrofotómetro
- Extracto Hidroalcohólico
- Balones aforados de 25, 50 y 100 mL
- Balanza analítica PW. MOD.PW.214
- Refrigeradora (DUREX)
- Rotavapor (buchi)
- Estufa (fanen)
- Mufla TDM SAE 1010
- Baño María (MLW)
- Pipetas micrométricas RAININ

### 2.2.3 REACTIVOS

- Agua destilada
- Ácido clorhídrico 32% puris (Merck/1.00313.2500)
- Ácido sulfúrico 95-98% puris (Merck/1.00713.2500)
- Etanol 96% % puris (Merck/1.00971.1000)
- Éter dietílico puris (Merck/1.00926.5000)
- Cloroformo reag.(Merck/1.59129.0500)
- Vainillina (Merck/8.18718.0100)
- Sulfato de Magnesio (Merck/1.05886.0500)
- Carbonato de sodio (Merck/1.96395.0500)
- Cloruro de sodio
- Hidróxido de sodio (Merck/1.06498.0500)
- Catecolamina
- Dimetil sulfóxido

## 2.3 UNIDAD EXPERIMENTAL O DE ANÁLISIS

Se utiliza el extracto fluido de *Arcytophyllum thymifolium*, *Salvia squalens*, *Justicia chlorostachya*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Dalea mutisii*, los cuales fueron analizados por separado a diferentes concentraciones para evidenciar su actividad antioxidante y citotóxica.

## 2.4 METODOLOGÍA

### 2.4.1 DROGA CRUDA Y EXTRACTO FLUIDO

#### 2.4.1.1 Recolección de droga vegetal

La recolección de droga vegetal, se realizó en la Provincia de Chimborazo capital Riobamba, de acuerdo a las siguientes coordenadas: Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*): Latitud de S 7°61.335, longitud de W 98°13.039 y altura de 2760msnm; Pumín (*Salvia squalens*): latitud de S7°61,351, longitud de W 98°13.051 y altura de 2734msnm, Chisag (*Arcytophyllum*



*thymifolium*); latitud de S7°61,351, longitud de W 98°13.051 y altura de 2734msnm, Iso (*Dalea mutisii*: latitud de S7°61,351, longitud de W 98°13.051 y altura de 2734msnm, *Insulina (Justicia chlorostachya)*, se recolectó en el cantón La SHELL, ciudad de Tena capital de la Provincia de Napo a los 1100 msnm.

#### 2.4.2 PRUEBAS PARA CONTROL DE CALIDAD DE DROGA CRUDA.

##### 2.4.2.1 Análisis macroscópico de hojas de plantas

En el análisis macroscópico de las hojas de *Arcytophyllum thymifolium*, *Salvia squalens*, *Justicia chlorostachya*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Dalea mutisii* se consideraron las siguientes características: Forma, Textura, Superficie, Color, Olor, Peculiaridades. (MIRANDA 1996)

##### 2.4.2.2 Análisis fisicoquímico de las hojas de las plantas

###### **Determinación de humedad.**

Se pesa  $2\pm 5 \times 10^{-4}$ g de hojas por separado en 5 cápsulas de porcelana previamente taradas y luego fueron sometidas a 105°C en una estufa de aire caliente durante 2 horas. (38).

###### **Determinación de cenizas**

Se pesa individualmente  $2\pm 5 \times 10^{-4}$ g de hojas en crisoles tarados, fueron sometidos a incineración en la mufla a 700°C de temperatura, durante 2 horas. (38).

###### **Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico.**

A las cenizas totales se adicionan de 2-3 mL de ácido clorhídrico al 10%, se tapó con un vidrio reloj y se hirvió durante 10 min, posteriormente se lavó con 5 mL de agua caliente y se filtra lavándose nuevamente con ácido nítrico, finalmente se agregó 2 gotas de nitrato de plata 0,1 M fue sometido a la mufla a una temperatura de 700°C -750°C durante 2 horas (38).

###### **Determinación de cenizas solubles en agua**

A las cenizas totales obtenidas se adiciona 15 a 20 mL, de agua, se tapa y se hierve durante 5 min, se filtra y se carboniza sobre el crisol tarado el cual fue llevado a la mufla a 700°C durante 2 horas (38).

#### **2.4.2.3 Procedimiento de extracto fluido vegetal.**

##### **Preparación de extracto fluido**

La droga vegetal, luego de trituradas las hojas se transfiere a un recipiente, el cual se humedeció con un volumen exacto de alcohol potable 96°, se dejó reposar durante 30 min asegurando la absorción del alcohol; se vertió sobre un percolador, cuyo orificio de salida se encontraba cubierto por algodón, se añadió alcohol al 96° hasta que esté completamente cubierto sin sobrepasar una concentración de 1:1, es decir, 1000g de droga vegetal: 1000 mL de alcohol, resirculando el volumen obtenido constantemente; el extracto fluido obtenido, fue embasado en recipientes de vidrio color ámbar y bajo refrigeración

##### **Pruebas de control de calidad de extracto fluido**

Para la determinación de características de control de los extractos fluidos se realizaron los siguientes ensayos: determinación de requisitos organolépticos

##### **Tamizaje fitoquímicos**

Este ensayo se utiliza para la identificación de Metabolitos secundarios en las drogas vegetales, su metodología fue descrita por LOCK y MIRANDA 1996. (13)(16).

**CUADRO N° 1 TAMIZAJE FITOQUIMICO ENSAYO Y METABOLITOS**

<b>ENSAYO</b>	<b>METABOLITOS</b>
Dragendorff	Alcaloides
Mayer	Alcaloides
Wagner	Alcaloides
Baljet	Lactonas
Borotrager	Quinonas
Lieberman – Buchard	Triterpenos y/o esteroides
Catequinas	Catequinas
Resinas	Resinas
Fehling	Azucres Reductores
Espuma	Saponinas
Cloruro Férrico	Compuestos Fenólicos/ Taninos
Shinoda	Flavonoides
Principios Amargos	Aceites Esenciales
Sudan III	Grasas

Fuente: LOCK y MIRANDA (1996). (13)(16)

### **Cromatografía de capa delgada para los extractos fluidos.**

### **Cromatografía para flavonoides presentes en los extractos.**

Se realiza una cromatografía en capa delgada para identificar flavonoides según WAGNER (38), en las siguientes condiciones:

La cromatografía en capa fina (CCF), TLC (Thin layer chromatography) es una técnica cromatografía. La fase estacionaria es una capa uniforme de un absorbente mantenido sobre una placa, la cual puede ser de vidrio, aluminio u otro soporte.

En cromatografía en capa fina se utiliza una placa cromatográfica inmersa verticalmente en un eluyente apolar; La placa cromatográfica consiste en una fase estacionaria polar (común

mente se utiliza sílica gel) adherida a una superficie sólida con algún agente cementante. El eluyente debe ser un compuesto líquido apolar, generalmente orgánico. Para realizar la CCF, se debe apoyar la placa cromatográfica sobre algún recipiente o cámara que contenga la fase líquida a aproximadamente 1 cm (la distancia entre el principio de la placa y la muestra que se desea analizar). la cromatografía en capa fina es la combinación de todos los colores en un papel.

### **Aplicación de las muestras**

Los productos a examinar se disolverán, cuando sea posible, en un disolvente orgánico que tenga un punto de ebullición lo suficientemente bajo para que se evapore después de la aplicación, lo más común es usar acetona. Frecuentemente se emplean disoluciones al 1%, de manera que al aplicar 2  $\mu$ l resulta en la carga 20  $\mu$ g de producto sólido. Muchos reactivos de revelado llegan a detectar 0.1  $\mu$ g de material; por esto con esta carga puede llegarse a observar un 5% de impurezas.

Existen una gran variedad de micropipetas y microjeringuillas para realizar el proceso de siembra de la muestra a analizar. También pueden usarse tubos capilares. El proceso de siembra se realiza tocando con la punta del capilar (micropipeta, etc) sobre la placa preparada. Dejando una distancia al borde inferior de un centímetro aproximadamente. El punto de aplicación de la muestra se denomina toque.

Una vez colocado el toque se deja secar para evaporar el disolvente, de forma que en la placa solo quedará la muestra a analizar.

### **Elección del eluyente**

La elección del eluyente depende del componente que se va a separar y del material en que la separación se lleva a cabo. Un método que se emplea para la selección del eluyente es una cromatografía en capa fina con distintos disolventes y unas muestras patrón.

Principales eluyentes en orden creciente de polaridad:

- Éter de petróleo

- Tetracloruro de carbono
- Éter dietílico
- Ciclohexano
- Acetato de etilo
- Piridina
- Benceno
- Etanol
- Cloroformo
- Metanol
- Diclorometano
- Agua
- Ácido acético

### **Compuestos cancerígenos.**

En la elección del eluyente influyen varios factores:

- Precio.
  - Pureza.
  - No utilizar mezclas de eluyentes (reproducibilidad).
  - No utilizar compuestos muy volátiles.
  - Evitar que contengan trazas de metales (catalizadores).
  - La elección del eluyente se realiza de forma empírica. Hay que estudiar la polaridad del componente y probar con eluyentes cada vez menos polares.
1. Toque de la muestra sin aplicar ningún eluyente.
  2. Aplicando un eluyente poco polar.
  3. Aplicando un eluyente más polar.

Al aplicar en primer lugar eluyentes poco polares, podemos seguir utilizando la misma placa para aplicar otros eluyentes más polares, hasta dar con el más apropiado.

Otra técnica para realizar la elección del eluyente consiste en sembrar varias muestras distanciadas suficientemente, y aplicar con un tubo capilar distintos eluyentes sobre el centro de cada muestra. Esto permite desarrollar cada eluyente radialmente por capilaridad, de forma que se aprecie el eluyente con el cual la separación se realiza de una manera más eficaz la cromatografía

### **Desarrollo de la cromatografía**

El desarrollo de los cromatogramas en capa fina se realiza normalmente por el método ascendente, esto es, al permitir que un eluyente ascienda por una placa casi en vertical, por la acción de la capilaridad. La cromatografía se realiza en una cubeta.

Para conseguir la máxima saturación posible de la atmósfera de la cámara, las paredes se impregnan del eluyente.

Generalmente el eluyente se introduce en la cámara una hora antes del desarrollo para permitir la saturación de la atmósfera. El tiempo de desarrollo, por lo general, no llega a los 30 minutos. El tiempo de una cromatografía cualitativa suele ser de un par de minutos, mientras que el tiempo de una cromatografía preparativa puede llegar a un par de horas.

Las placas pueden desarrollarse durante un tiempo prefijado, o hasta que se alcance una línea dibujada a una distancia fija desde el origen. Esto se hace para estandarizar los valores de RF. Frecuentemente esta distancia es de 10 cm.; parece ser la más conveniente para medir valores de RF. Después del desarrollo, las placas pueden secarse rápidamente con una corriente de aire caliente.

La mejor posición de desarrollo para un componente es el punto medio entre el origen y el frente del eluyente, ya que permite separar las impurezas que se desplazan con mayor y menor velocidad. El frente del eluyente nunca debe llegar a tocar el borde de la placa.

### **Localización de sustancias**

Si los compuestos separados no son coloreados es necesario revelar la posición de dichos compuestos, para ello, existen dos tipos de métodos:

Métodos químicos. Métodos físicos.

**Métodos químicos** Consisten en realizar una reacción química entre un reactivo revelador y los componentes separados, para ello se pulveriza la placa con los reactivos reveladores.

**Generalmente** se utiliza como reactivo revelador yodo, el cual forma complejos coloreados con los componentes orgánicos (con tonos amarillo-marrón), pero las manchas desaparecen con el tiempo con lo que es conveniente señalar las manchas aparecidas.

Otro reactivo revelador bastante utilizado es el ácido sulfúrico que, reacciona con los componentes orgánicos produciendo manchas negras.

También es utilizado el permanganato potásico, que deja unas manchas de color amarillo. El tamaño de las manchas no está relacionado con la cantidad de componente separado.

Además de estos reveladores generales, existen otros específicos:

2,4 - dinitrofenilhidracina (para aldehídos y cetonas). Verde de bromocresol (para ácidos carboxílicos). Paradimetil aminobenzaldehído (para aminas). Ninhidrina (para aminoácidos).

**Métodos físicos.** El más común consiste en añadir al adsorbente un indicador fluorescente. De tal forma que al colocar la placa bajo una lámpara ultravioleta, y dependiendo del indicador y de la longitud de onda, aparecen manchas fluorescentes en las zonas en las que hay componentes, o en otros casos aparece toda la placa fluorescente excepto donde hay componentes.

Algunos compuestos poseen cierta fluorescencia (aunque no es normal) con lo que pueden ser detectados directamente en una lámpara de ultravioleta.

## Constantes Rf y Rx

La constante RF (Ratio of Front) es simplemente una manera de expresar la posición de un compuesto sobre una placa como una fracción decimal, mide la retención de un componente. Se define como:  $RF = \text{Distancia de la muestra desde el origen} / \text{Distancia del eluyente desde el origen}$

La distancia recorrida por el compuesto se mide generalmente desde el centro de la mancha, los cálculos se simplifican si el denominador es 10. Para que los RF sean reproducibles deben ser fijadas una serie de condiciones (Espesor de la placa, fase móvil, fase estacionaria, cantidad de muestra). El máximo valor de RF que se puede alcanzar es de 1, lo ideal es un RF entre 0.55 y 0.7.

Para averiguar si dos compuestos son iguales, se colocan ambos sobre la misma placa y se desarrolla con varios eluyentes. Una vez desarrollados se calculan los RF y si son distintos, puede deducirse con toda seguridad que no se trataba del mismo compuesto. Por el contrario si los RF son iguales los compuestos pueden ser iguales o no serlo.

Si se sospecha que dos compuestos son muy parecidos se eluyen sobre la misma placa con el mismo eluyente u otros de menor polaridad, hasta apreciar una separación mínima. En este caso, no se pueden usar reveladores químicos ya que alterarían los compuestos, sino indicador ultravioleta.

También se puede operar de la manera siguiente: Se selecciona un compuesto (X), que tenga una posición de desarrollo conveniente; todos los demás compuestos sobre la placa se relacionan con éste. De esta manera, se tiene el RX ya que:  $R_x = \text{Distancia recorrida por el compuesto de referencia(X)} / \text{Distancia recorrida por el eluyente}$  (45)

### 2.4.3 DETERMINACIÓN DE CITOTOXICIDAD DE EXTRACTOS OBTENIDOS

#### 2.4.3.1 Materiales:

- a. Huevos de *Artemia salina*



- b. *Sal marina*
- c. Un pequeño tanque con malla de división perforada para crecer camarones y una lámpara para atraer a los camarones
- d. Pipetas de 10µL, 100 µL y 1000 µL
- e. Tubos de ensayo

#### 2.4.3.2 Procedimiento

- a. Colocar 3,8 g de sal marina por litro de agua en la pecera.
- b. Dividir la pecera con la malla y colocar huevos de *Artemia salina* en un extremo de la misma.
- c. Colocamos una fuente de oxígeno en la pecera que nos ayude a la oxigenación del agua
- d. Cubrimos la pecera de la luz para que se incuben los huevos de *Artemia salina*
- e. Colocamos en el extremo opuesto de la malla una fuente de luz que los nautilos de *Artemia salina* puedan seguir al momento de nacer.
- f. Preparamos los viales para el ensayo
- g. En cuatro tubos de ensayo colocamos 10 nautilos de *Artemia salina*
- h. A tres de estos tubos se les coloca el extracto fluido de las plantas analizadas a diferentes concentraciones.
- i. Las dejamos en reposo por 24 horas y contamos el número de sobrevivientes (11)

Para la determinación de citotoxicidad el primer paso es el conteo de las larvas muertas en cada extracto y cada blanco, se corrigen las mortalidades mediante la fórmula de Abbott y paralelamente se utiliza otra corrección que se basa en el porcentaje de supervivencia de los individuos, esta corrección es utilizada en algunos procedimientos encontrados. Las fórmulas de estas correcciones son las siguientes:

$$M = \frac{m_e - m_b}{1 - m_b} \quad (\text{Fórmula de Abbott}) \quad (\text{Eq. 1})$$

Donde:

M = Mortalidad.

me = mortalidad en el extracto.

mb = mortalidad en el blanco.

$$m_e = \frac{r}{n} \quad (Eq. 2) \quad m_b = \frac{r'}{n} \quad (Eq. 3)$$

r = Nauplios muertos en el extracto.

r' = Nauplios muertos en el blanco.

n = Número de individuos.

Como el número de individuos es constante (10 en este caso):

$$\%M = \frac{(m_e - m_b)}{(10 - m_b)} \times 100 \quad (Eq. 4)$$

La otra corrección utilizada es la siguiente:

$$S = \frac{(s' - r)}{s'} \quad (Eq. 5)$$

Donde:

S = supervivencia

s' = Nauplios vivos en el blanco

Mortalidad = 1 - Supervivencia (Eq. 6)

Igualando las dos ecuaciones anteriores:

$$\%M = \frac{r}{s'} \times 100 \quad (Eq. 7)$$

## 2.4.4 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

### 2.4.4.1 Ensayo de capacidad antioxidante según el método enzimático de inhibición de la polifenoloxidasas

- Reactivos y técnica
- Extracto enzimático

Se homogeneiza 10g de pulpa de manzana en 20 mL de buffer acetato de sodio/ácido acético 20mM (pH 5). Se centrifuga a 20.000 rev/min y se utiliza el sobrenadante como solución enzimática.

### 2.4.4.2 Buffer

Acetato de sodio/ácido acético 20mM pH 5. Se prepara primeramente las soluciones de acetato de sodio y ácido acético de la siguiente manera:

Solución concentrada A: se diluye 11,55mL de ácido acético glacial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) en un litro de agua destilada (solución 0.2M)

Solución concentrada B: se diluye 16.41g de acetato de sodio anhidro ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) ó 27.22g de acetato de sodio trihidratado ( $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) en un litro de agua destilada (solución 0.2M también)

Se mezclan los volúmenes de soluciones concentradas presentadas a continuación, y se aforó a 100mL, con agua destilada para obtener los valores mencionados de pH.

mL A	mL B	pH final
14.8	35.2	5.0

### 2.4.4.3 Sustrato.

Catecol 0.5M preparado en el buffer acetato. Para lo cual se pesa exactamente 0.2752g de catecol (peso molecular 110.06g/mol) y se diluye con 5mL de buffer acetato de sodio/ácido

acético cantidad que es suficiente para los análisis. Cabe destacar que el catecol se prepara para cada análisis ya que se degrada fácilmente por factores ambientales tales como la luz y el oxígeno del aire.

#### **2.4.4.4 Muestra a ensayo**

Las muestras de las que se mide la capacidad antioxidante son preparadas a tres diferentes concentraciones 10.000  $\mu\text{g/mL}$ , 1.000  $\mu\text{g/mL}$  y 100  $\mu\text{g/mL}$ , de manera que al ser agregadas las otras sustancias las concentraciones finales son de: 1000  $\mu\text{g/mL}$ , 100  $\mu\text{g/mL}$  y 10  $\mu\text{g/mL}$ .

A estas muestras se las prepara pesando 0.0500g del extracto de la planta (se anota en el libro récord exacta) se pasa a un vial limpio y seco diluyéndolo con 5mL de DMSO 8Dimetilsulfóxido lo que da como resultado tener una solución con una concentración de 10.000  $\mu\text{g/mL}$ .

Sucesivamente se realiza diluciones al décimo para obtener las concentraciones de 1000  $\mu\text{g/mL}$  y 100  $\mu\text{g/mL}$ . Al agregar las otras soluciones como son el catecol, el extracto enzimático y el buffer se obtiene las siguientes concentraciones: 1000  $\mu\text{g/mL}$ , 100  $\mu\text{g/mL}$  y 10  $\mu\text{g/mL}$  que se consideran responsables de la actividad antioxidante.

#### **2.4.4.5 Antioxidante**

Como agente antioxidante positivo se utiliza la vitamina C a una concentración de 1000  $\mu\text{g/mL}$  que al final de la dilución con el catecol, el extracto enzimático y el buffer resulta ser de 100  $\mu\text{g/mL}$ . Dicha solución se la prepara diluyendo 0.0500g de vitamina C en 5mL de buffer 10.000  $\mu\text{g/mL}$ , se la diluye al décimo con buffer y se obtiene la solución de 1000  $\mu\text{g/mL}$ .

La solución de solvente, la muestra, el sustrato, y las enzimas se realizan directamente a la cubeta en la cual se llega a un volumen final de 1mL. Se da inicio a la recolección mediante la adición de extractos enzimáticos y se comienza inmediatamente a leer y anotar la absorbancia.

Se anotan los resultados que da el fotómetro cada 15 segundos desde el inicio del experimento hasta que hayan transcurrido 120 segundos. Es decir se realizan ocho lecturas.

Primeramente se lleva a cero el aparato con buffer acetato ya que éste, es el solvente que interviene en mayor volumen dentro del experimento. Se lee primeramente el blanco, luego las diluciones de muestra de menor a mayor concentración y por último un testigo positivo, la vitamina C a 100 µg/mL que efectivamente tiene poder antioxidante. Este procedimiento se repite por dos ocasiones más en cada muestra.

A continuación se expone el esquema del procedimiento a seguir:

**CUADRO N° 2. PROCEDIMIENTO PARA ENSAYO DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

<b>Volumen en ml</b>	<b>Blanco</b>	<b>Muestra 1° dilución</b>	<b>Muestra 2° dilución</b>	<b>Muestra 3° dilución</b>	<b>Antioxidante Vitamina C</b>
<b>Buffer Acetato</b>	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7
<b>Sustrato catecol</b>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
<b>Muestra</b>	-	0.1	0.1	0.1	-
<b>Extracto Enzimático</b>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
<b>Antioxidante</b>	-	-	-	-	0.1

Se considera como inhibición nula la absorbancia correspondiente al blanco, en el que las enzimas actúan libremente sobre el catecol. Así mismo, se toma como inhibición absoluta la que presenta la cubeta con el antioxidante de poder previamente probado.

El porcentaje de inhibición se determina relacionando la lectura del blanco con la lectura de cada uno de los extractos.

#### **2.4.4.6 Preparación y estandarización de soluciones**

Se llevarán a cabo de acuerdo a los apartados destinados a la preparación de soluciones y reactivos descritos en la Farmacopea de los Estados Unidos USO 2002 NF 28

## CAPÍTULO III

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Gracias al apoyo de datos etnobotánicos se culminó el trabajo experimental, que incluyó el estudio farmacognóstico de las drogas vegetales seleccionadas, su actividad citotóxica así como la antioxidante “in vitro” obteniendo los resultados que se detallan a continuación.

#### 3.1 CALIDAD DE DROGA CRUDA

La calidad del extracto obtenido es uno de los motivos por los que se realizó esta prueba, sus resultados dependen, de varios factores para conservar íntegramente las propiedades terapéuticas existentes en cada planta.

#### 3.2 ANÁLISIS MACROSCÓPICOS DE LAS HOJAS

- *Myrcianthes rhopaloides*: Hoja peciolada acuminada, entera ligeramente elíptica, de olor aromático, verde oscuro brillante en la cara superior y verde pálido en la interior de textura lisa- coriácea de 3,2 cm de largo y 1,8 cm de ancho.
- *Salvia squalens*; Hoja aguda, entera ligeramente truncada, sentada y palminervia, olor aromático verde parduzco de 1,5cm largo por 0,8cm de ancho, de textura membranosa.
- *Justicia chlorostachya*: Arbusto con hojas lanceoladas de 10 a 15 cm de largo por cuatro de ancho. Están dispuestas opuestamente con los bordes lisos y un corto peciolo. Una vez seca son de color marrón-verdoso. Son de sabor amargo
- *Arcythophyllum thymifolium*: Hiervas con apariencias de musgos, formando alfombras; los tallos son rastreros, algo leñosos. Las hojas son opuestas, lanceoladas

de hasta 0,4 cm de largo. Las flores son solitarias, de hasta 5 mm de largo, blancas o teñidas con lila o rosado, tienen un tubo corto con 4 lóbulos triangulares.

- ***Dalea mutisii***: Las hojas son alternas y compuestas cada una por varios estrechos foliolos, salpicados de glándulas, de color verde claro. La inflorescencia es una espiga cilíndrica densa de flores en la punta de cada tallo o rama madre. El fruto es de color verde oval en forma de vaina leguminosa que contiene una semilla

### 3.3 CONTROL FÍSICO-QUÍMICO DE LAS HOJAS

#### 3.3.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

El material vegetal una vez cortado, experimenta alteraciones que influyen sobre la actividad terapéutica, estos cambios se deben a reacciones de naturaleza enzimática que se producen en presencia de agua, acelerando los procesos de putrefacción y enmohecimiento.

Por lo tanto, el contenido de agua en la droga influye sobre su calidad a la vez es importante conocer estos valores para los procesos de secado.

**CUADRO N° 3: HUMEDAD DE LAS HOJAS DE *Arcytophyllum thymifolium*, *Salvia squalens*, *Justicia chlorostachya*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Dalea mutisii*". Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012**

PLANTAS	% HUMEDAD
Arrayan ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> )	9,79
Pumin ( <i>Salvia squalens</i> )	8,10
Chisag ( <i>Arcytophyllum thymifolium</i> )	8,50
Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> )	9,81
Iso ( <i>Dalea mutisi</i> )	8,49

Las drogas vegetales se encontraron dentro del 10% límite establecido de concentración de humedad de acuerdo a la REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA (25).valor que indica buenas condiciones de almacenamiento previniendo proliferación microbiana y asegurando la mantención de las propiedades

### 3.3.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES SOLUBLES EN AGUA E INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO DE LA DROGA CRUDA

El ensayo realizado permite conocer si el material vegetal tiene un exceso de materia ferrosa, arcillosa o arenosa

**CUADRO N° 4: CENIZAS TOTALES SOLUBLES EN AGUA E INSOLUBLES EN ACIDO CLORHÍDRICO DE LA DROGA CRUDA Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012**

Plantas	%C. totales (mg)	%C. sol. Agua(mg)	%C. ins. HCl (mg)
Arrayán ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> )	9,79	8,52	0,96
Pumín ( <i>Salvia squalens</i> )	8,10	7,30	1,16
Chisag( <i>Arcytophyllum thymifolium</i> )	8,50	7,37	1,18
Insulina ( <i>Justicia chlorostachya</i> )	9,81	8,54	0,97
Iso ( <i>Dalea mutisi</i> )	8,49	7,34	1,17

Los valores en cuanto a los pesos obtenidos son aceptables para este tipo de muestras, de acuerdo a la REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA (25). Los límites permitidos de cenizas totales son hasta el 10%, lo que da lugar a garantizar la calidad de recolección de la droga vegetal a estudiarse.

### 3.3.3 CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE LAS PLANTAS UTILIZADAS

Las variables analizadas fueron escogidas por ser éstas, las más representativas en la conservación y actividad de un extracto fluido.



**CUADRO N° 5: DETERMINACIÓN ORGANOLÉPTICA DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE *Arcytophyllum thymifolium*, *Salvia squalens*, *Justicia chlorostachya*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Dalea mutisii*, Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012**

	<i>Arrayan</i> <i>M. rhopaloides</i>	<i>Pumin</i> <i>S. squalens</i>	<i>Chisag</i> <i>A. thymifolium</i>	<i>Insulina</i> <i>J. chlorostachya</i>	<i>Iso</i> <i>D. mutisii</i>
<b>Olor</b>	Herbaria	Aromático	Herbario	Herbario	Herbario
<b>Color</b>	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
<b>Aspecto</b>	Denso	Denso	Turbio	Turbio	Denso

Los resultados revelaron características organolépticas propias de cada extracto fluido,

#### 3.3.4 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Una de las etapas más representativas del estudio farmacognóstico es la determinación cualitativa de grupos químicos que ayudan a comprender su fisiología y bioquímica., logrando su mejor aprovechamiento con fines científicos y medicinales.

CUADRO N° 6: TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LAS DROGAS CRUDAS, Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012

Ensayo	Indicadores	Arrayán	Pumín	Insulina	Chisag	Iso
<b>Dragendorff/Alcaloides</b>	Opalencia(+)	+	-	+	-	-
	Turbidez definida(++)					
	Precipitado Naranja(+++)					
<b>Mayer/Alcaloides</b>	Opalencia(+)	-	-	-	+	+
	Turbidez definida(++)					
	Precipitado Naranja(+++)					
<b>Wagner/Alcaloides</b>	Opalencia(+)	++	+++	+	-	-
	Turbidez definida(++)					
	Precipitado Naranja(+++)					
<b>Baljet/Lactonas</b>	Color Rojo(++)	+++	++	-	-	-
	Precipitado(+++)					
<b>Borntrager/Quinonas</b>	Rosado (++)	++	+	+	+	-
	Rojo(+++)					
<b>Lieberman-Buchard/Triterpenos</b>	Rosado-Azul	-	-	Rosa	-	Verde
	Intenso-Visible			+		+
	Oscuro-Negro(+)					
<b>Catequinas</b>	Mancha verde carmelita/UV	-	+	-	+	-
<b>Resinas</b>	Precipitado(+)	-	+	-	+	+
<b>Fehling/Azucares Reductores</b>	Color/precipitado rojo ladrillo(+)	+	++	+	++	+
<b>Espuma/Saponinas</b>	Espuma persistente 2“(+) )	++	+	-	++	-
<b>Cloruro Férrico/Taninos</b>	Rojo-Vino(+)					
	Verde intenso(+)	AZUL	VERDE	-	VERDE	VERDE
	Azul(+)	+	+		+	+
<b>Shinoda/Flavonoides</b>	Amarillo,naranja o rojo	++	+	++	++	+
<b>Principios Amargos</b>	Sabor amargo	+	++	+++	+	+
<b>Sudan III/Grasas</b>	Gotas de color rojo	+	++	+	+	++

(-) Ausencia; (+) Posible presencia; (++) Presencia confirmada; (+++) Presencia de cantidad suficiente

- **Pumín (*Salvia squalens*):** De acuerdo con la Tabla, donde se exponen los compuestos activos encontrados: en Pumín (*Salvia squalens*) coinciden con los principios activos descritos por (VARGAS 1995), en su estudio de *Salvia officinalis* donde se reveló la

presencia de taninos, esencias aromáticas, triterpenos y compuestos fenólicos entre los más importantes. (19)

- **Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*):** El tamizaje fitoquímico de extracto fluido de arrayán evidencia la presencia de flavonoides, azúcares reductores, taninos, lactonas, triterpenos y esteroides concordando con los resultados de (CERRUTTI T, 2000).
- **Insulina (*Justicia chlorostachy*):** El tamizaje fitoquímico de extracto fluido de insulina evidencia la presencia de flavonoides, alcaloides, quinon azúcares reductores, taninos, triterpenos y grasa.
- **Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*):** El tamizaje fitoquímico de extracto fluido de arcitophilyum evidencia la presencia de flavonoides, azúcares reductores, taninos, alcaloides, quinonas, catequinas, resinas y grasas.(40)
- **ISO (*Dalea mutisii*):** El tamizaje fitoquímico de extracto fluido de ISO evidencia la presencia de flavonoides, azúcares reductores, taninos, alcaloides, resinas, triterpenos y grasas.

### 3.3.5 CROMATOGRAFÍA DE CAPA DELGADA (TLC) DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE LAS PLANTAS.

Es uno de los requisitos exigidos para la evaluación de medicamentos herbarios, la determinación de un perfil cromatográfico contribuye a caracterizar la droga vegetal.

### 3.3.6 CROMATOGRAFÍA PARA FLAVONOIDES PRESENTES EN LOS EXTRACTOS FLUIDOS.

Se realiza una cromatografía en capa delgada para identificar flavonoides en los extractos fluidos, la grafica nos demuestra las características del cromatograma obtenida de acuerdo a las siguientes condiciones:

**Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*)**

**Fase móvil:** Tolueno: acetato de etilo 95:5

**Revelador:** H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – Vainillina.

**Pumín (*Salvia squalens*)**

**Fase móvil:** Tolueno: Acetato de etilo 95:5

**Revelador:** H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – Vainillina.

**Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*)**

**Fase móvil:** Cloroformo: Metanol: Agua 8:18:2

**Revelador.** Sulfato de cerio

**Insulina (*Justicia chlorostachy*)**

**Fase móvil:** Acetato de etilo: Acetona: Ácido acético: Agua; 100:11:22:25

**Revelador:** H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – Vainillina.

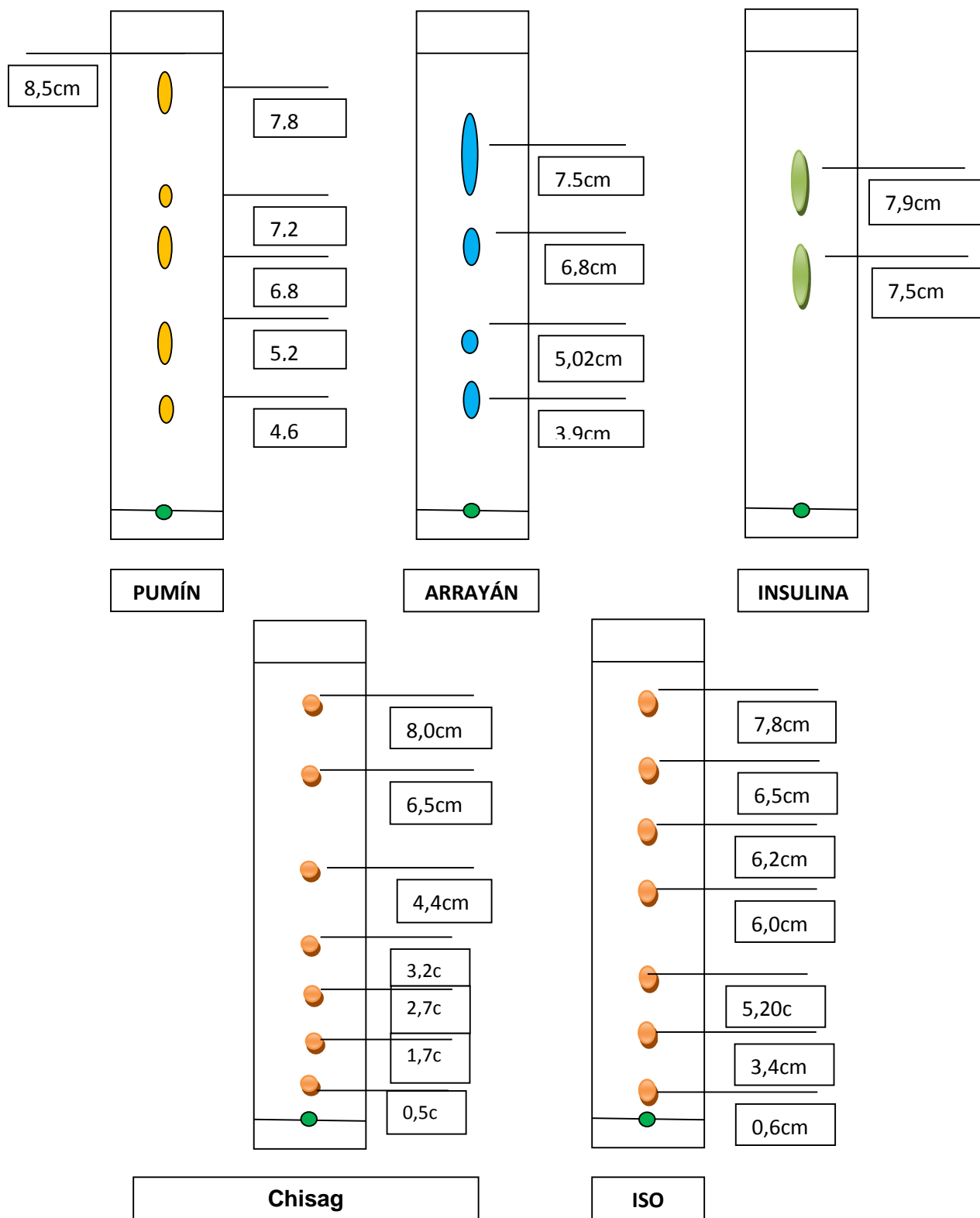
**Iso (*Dalea mutisii*)**

**Fase móvil:** Acetato de etilo: Ácido fórmico: ácido acético glacial: Agua; 100:11:11:26

**Revelador:** Sulfato de cerio

**Soporte:** Sílica Gel 60 F 254 (Merck/1.11846.0001)

FIG. N°2. ESQUEMA DE CROMATOGRAMAS OBTENIDO PARA FLAVONOIDES EN LOS EXTRACTOS DE: *Arcytophyllum thymifolium*, *Salvia squalens*, *Justicia chlorostachya*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Dalea mutisii*. Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012



**CUADRO N° 7: Rf DE BANDAS DE FLAVONOIDES PRESENTES EN LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE ARRAYÁN (*Myrcianthes rhopaloides*) Y PUMÍN (*Salvia squalens*), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012**

FUENTE: (WAGNER, H)(20) Rf= distancia de la sustancia/frente de la fase móvil; banda de Rf N°1; Rf1: banda de Rf N°2;

PUMIN ( <i>Salvia squalens</i> )			ARRAYAN ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> )	
Rf	Rf teórico	Rf practico	Rf teórico	Rf practico
<b>Rf1</b>	0,54-0,57 (Rutina)	0,54	0,27-0,37 (luteolina)	-
<b>Rf2</b>	0,60-0,62 (Ac. Clorogénico)	0,61	0,39-0,46 (Miricetina)	0,45
<b>Rf3</b>	0,78-0,80 (Cinarina)	0,80	0,48-0,51 (Apigenina)	-
<b>Rf4</b>	0,82-0,85 (Ac. Rosmarínico)	0,84	0,53-0,59 (Rutina)	0,59
<b>Rf5</b>	0,85-0,89(quercetina)	-	0,71-0,82 (Isoquercitrina)	0,80
<b>Rf6</b>	0,90-0,94 (Ac Cafeico)	0,91	0,84-0,93 (Quercetina)	0,88

Rf2: banda de Rf N°3; Rf3: banda de Rf N°4; Rf4: banda de Rf N°5; Rf5: banda de Rf N°6; Rf6

Mediante el sistema cromatográfico realizado se puede presumir que las bandas encontradas pertenecen a compuestos tales como Rutina, Ácido. Clorogénico, Cinarina, Ácido. Rosmarínico, Quercetina, Ácido .Cafeico en el caso del Pumín (*Salvia squalens*) y luteolina, Miricetina, Apigenina, Rutina, Isoquercitrina, Quercetina en el extracto de Arrayá (*Myrcianthes rhopaloides*).

**CUADRO N° 8: Rf DE BANDAS DE FLAVONOIDES PRESENTES EN EL EXTRACTOS FLUIDO INSULINA (*Justicia chlorostachy*), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012**

INSULINA ( <i>Justicia chlorostachy</i> )		
Rf	Rf teórico	Rf práctico
Rf1	0,85-0,89(quercetina)	0,89
Rf2	0,90-0,94 (Ac Cafeico)	0,94

FUENTE: (WAGNER, H)(20)

Mediante el sistema cromatográfico realizado, se puede presumir que las bandas encontradas pertenecen a compuestos tales como quercetina, Ac Cafeico en el extracto de Insulina (*Justicia chlorostachya*).

**CUADRO N° 9: Rf DE BANDAS DE FLAVONOIDES PRESENTES EN LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE Iso (*Dalea mutisii*), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012**

<i>Iso (Dalea mutisii)</i>		
Rf	Rf teórico	Rf práctico
<b>Rf1</b>	Ac. Clorogénico	0,400
<b>Rf2</b>	(hiperócido – derivado canferol)	0,6117
<b>Rf3</b>	Isoquercetina	0,7058
<b>Rf4</b>	Quercetina	0,7294
<b>Rf5</b>	Quercetina	0,7647
<b>Rf6</b>	Ac. Cafeico	0,9176

FUENTE: (WAGNER, H)(20)

Mediante el sistema cromatográfico realizado se puede presumir que las bandas encontradas pertenecen a compuestos tales como: Ac. Clorogénico, (hiperócido – derivado canferol), Isoquercetina, Quercetina, Ac. Cafeico

**CUADRO N° 10: Rf DE BANDAS DE FLAVONOIDES PRESENTES EN LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012**

<i>Chisag (Arcythophyllum thymifolium)</i>		
Rf	Rf teórico	Rf práctico
<b>Rf 1</b>	Quercetina	0,7647

FUENTE: (WAGNER, H)(20)

Mediante el sistema cromatográfico realizado, se puede presumir que las bandas encontradas pertenecen a compuestos tales como Quercetina

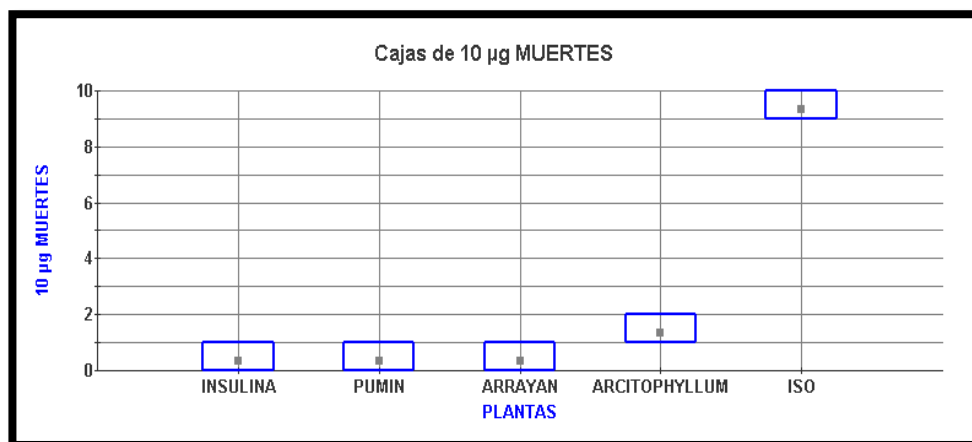
### 3.4 DETERMINACIÓN DE CITOTOXICIDAD DE EXTRACTOS

Mediante el análisis de la actividad citotóxica del extracto de las plantas antes mencionadas, se trata de demostrar la actividad tóxica que posee las mismas a diferentes concentraciones ya que de esto, depende la acción que puede producir la planta al ser utilizada por la comunidad.

**CUADRO N°11: ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE EXTRACTOS DE Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 10 µg**

Estadísticos para la variable 10 µg MUERTES por PLANTA					
GRUPOS	Insulina	Pumín	Arrayán	Chisag	Iso
N	3	3	3	3	3
Media	0,3333	0,3333	0,3333	1,3333	9,3333
Varianza	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333
Desviación Típica	0,5774	0,5774	0,5774	0,5774	0,5774
Mínimo	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000	9,0000
Máximo	1,0000	1,0000	1,0000	2,0000	10,0000

**FIG N°3: CAJAS Y ALAMBRES PARA EL ANÁLISIS DE CITOTOXICIDAD DE EXTRACTOS DE Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 10 µg**



La comparación entre varianzas y desviaciones entre la mortalidad provocada por los extractos de Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) a una concentración



de 10 ug, muestra que los datos dentro de cada grupo se encuentran centralizados, observándose a primera vista que la mortalidad con el extracto de Iso (*Dalea mutisii*) es el que presenta un valor significativamente distinto al de los demás.

**CUADRO N°12: ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA DE LA CITOTOXICIDAD ENTRE LOS EXTRACTOS DE Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 10 µg**

<b>Anova un Factor:</b>	10 µg MUERTES				
<b>Variable Respuesta:</b>	PLANTAS				
<b>Variable Explicación:</b>	15				
	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>G.L.</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>F-valor</b>	<b>p-Valor</b>
<b>Entre Grupos</b>	186,0000	4	46,5000	139,5000	0,0010E-5
<b>Dentro Grupos</b>	3,3333	10	0,3333		
<b>Total (corr.)</b>	189,3333	14			

La aplicación de anova un factor entre resultados de mortalidad de los extractos de Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) a una concentración de 10 ug permite identificar que al menos existe un grupo heterogéneo con el resto, lo que se comprueba en el test siguiente.

**CUADRO N°13: COMPARACIONES MULTIPLES TUKEY HSD 95% DE LOS EXTRACTOS DE Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 10 µg.**

<b>Anova un Factor, Comparaciones Múltiples</b>			
<b>Variable Respuesta:</b>	10 µg MUERTOS		
<b>Variable Explicativa:</b>	PLANTAS		
<b>Números de Casos:</b>	15		
<b>Método: Tukey HSD al 95,00%</b>			
<b>PLANTAS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
Insulina	3	0,3333	X
Pumín	3	0,3333	X
Arrayán	3	0,3333	X
Chisag	3	1,3333	X
Iso	3	9,3333	X
<b>Contraste</b>	<b>Diferencia</b>		<b>+/- Limite</b>
Insulina VS Pumín	0,0000		1,5515
Insulina VS Arrayán	0,0000		1,5515
Insulina VS Chisag	-1,0000		1,5515
Insulina VS Iso	*-9,0000		*1,5515
Pumín VS Arrayán	0,0000		1,5515
Pumín VS Chisag	-1,0000		1,5515
Pumín VS Iso	*-9,0000		*1,5515
Arrayán VS Chisag	-1,0000		1,5515
Arrayán VS Iso	*-9,0000		*1,5515
Chisag VS Iso	*-8,0000		*1,5515

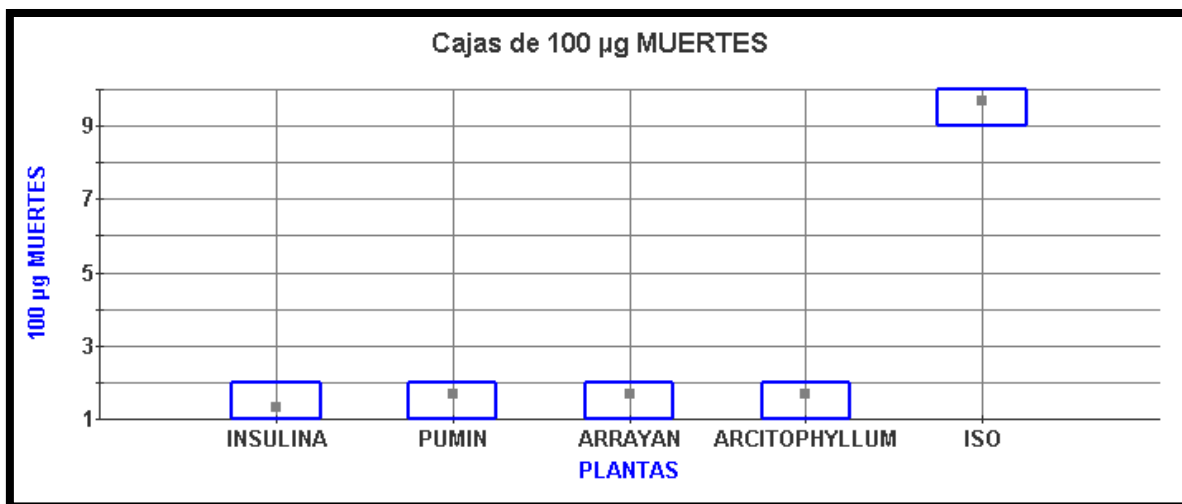
\*DIFERENCIA ESTADÍSTICA SIGNIFICATIVA.

Aquí se puede observar que los resultados de mortalidad con los extractos de Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) son homogéneos, es decir, no hay diferencias significativas entre estos, mientras que los resultados con el extracto de Iso (*Dalea mutisii*) si son significativamente distintos a todos los demás, por lo que se puede decir que definitivamente el extracto de esta planta es el más citotóxico de todos a esta concentración.

CUADRO N°14: ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE EXTRACTOS DE Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 100 µg

Estadísticos para la variable 100 µg MUERTES por PLANTA					
GRUPOS	Insulina	Pumín	Arrayán	Chisag	Iso
N	3	3	3	3	3
Media	1,3333	1,6667	1,6667	1,6667	9,6667
Varianza	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333
Desviación Típica	0,5774	0,5774	0,5774	0,5774	0,5774
Mínimo	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	9,0000
Máximo	2,0000	2,0000	2,0000	2,0000	10,0000

FIG N°4: CAJAS Y ALAMBRES PARA EL ANÁLISIS DE CITOTOXICIDAD DE EXTRACTOS DE Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 100 µg



La comparación entre varianzas y desviaciones entre la mortalidad provocada por los extractos de Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) a una concentración de 100 ug, muestra que los datos dentro de cada grupo se encuentran centralizados,

observándose a primera vista que la mortalidad con el extracto de Iso (*Dalea mutisii*) es el que presenta un valor significativamente distinto al de los demás.

**CUADRO N°15: ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA DE LA CITOTOXICIDAD ENTRE LOS EXTRACTOS DE Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 100 µg**

<b>Anova un Factor:</b>	100 µg MUERTES				
<b>Variable Respuesta:</b>	PLANTAS				
<b>Variable Explicación:</b>	15				
	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-Valor
<b>Entre Grupos</b>	154,0667	4	39,2667	117,8000	0,0002E-4
<b>Dentro Grupos</b>	3,3333	10	0,3333		
<b>Total (corr.)</b>	160,4000	14			

La aplicación de anova un factor entre resultados de mortalidad de los extractos de Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) a una concentración de 100 ug permite identificar que al menos existe un grupo heterogéneo con el resto, lo que se comprueba en el test siguiente.

**CUADRO N°16: COMPARACIONES MULTIPLES TUKEY HSD 95% DE LOS EXTRACTOS DE Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 100 µg.**

<b>Anova un Factor, Comparaciones Múltiples</b>			
<b>Variable Respuesta:</b>	100 µg MUERTOS		
<b>Variable Explicativa:</b>	PLANTAS		
<b>Números de Casos:</b>	15		
<b>Método: Tukey HSD al 95,00%</b>			
<b>PLANTAS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
Insulina	3	1,3333	X
Pumín	3	1,6667	X
Arrayán	3	1,6667	X
Chisag	3	1,6667	X
Iso	3	9,6667	X
<b>Contraste</b>	<b>Diferencia</b>		<b>+/- Limite</b>
Insulina VS Pumín	-0,3333		1,5515
Insulina VS Arrayán	-0,3333		1,5515
Insulina VS Chisag	-0,3333		1,5515
Insulina VS Iso	*-8,3333		*1,5515
Pumín VS Arrayán	0,0000		1,5515
Pumín VS Chisag	0,0000		1,5515
Pumín VS Iso	*-8,0000		*1,5515
Arrayán VS Chisag	0,0000		1,5515
Arrayán VS Iso	*-8,0000		*1,5515
Chisag VS Iso	*-8,0000		*1,5515

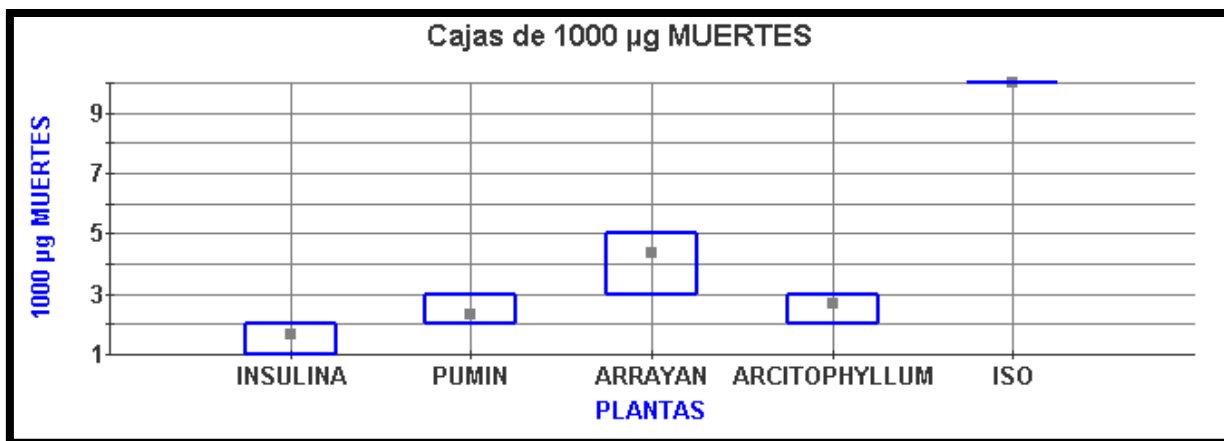
\*DIFERENCIA ESTADÍSTICA SIGNIFICATIVA.

Los resultados de mortalidad con los extractos de Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) son homogéneos, es decir, no hay diferencias significativas entre estos, mientras que los resultados con el extracto de Iso (*Dalea mutisii*) si son significativamente distintos a todos los demás, por lo que se puede decir que definitivamente el extracto de esta planta es el más citotóxico de todos a esta concentración.

CUADRO N°17: ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE EXTRACTOS DE Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 1000 µg

Estadísticos para la variable 1000 µg MUERTES por PLANTA					
GRUPOS	Insulina	Pumín	Arrayán	Chisag	Iso
N	3	3	3	3	3
Media	1,6667	2,3333	4,3333	2,6667	10,0000
Varianza	0,3333	0,3333	1,3333	0,3333	0,0000
Desviación Típica	0,5774	0,5774	1,1547	0,5774	0,0000
Mínimo	1,0000	2,0000	3,0000	2,0000	10,0000
Máximo	2,0000	3,0000	5,0000	3,0000	10,0000

FIG N°5: CAJAS Y ALAMBRES PARA EL ANÁLISIS DE CITOTOXICIDAD DE EXTRACTOS DE Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 1000 µg



La comparación entre varianzas y desviaciones entre la mortalidad provocada por los diferentes extractos a una concentración de 1000 ug, muestra que los datos dentro de cada grupo se encuentran centralizados, observándose la diferencia de centralización en el extracto de arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*).

A primera vista se puede observar que la mortalidad con el extracto de Iso (*Dalea mutisii*) es el que presenta un valor idealizado (es decir, con mortalidad de 100%) significativamente distinto al de los demás. Se destaca la elevación en los valores de mortalidad del extracto de

Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*) que no sigue la tendencia de los extractos de Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*). Esto puede deberse a la saturación de sustancias como las resinas que pueden formar agregados al llegar a cierta concentración y potenciar sus efectos.

**CUADRO N°18: ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA DE LA CITOTOXICIDAD ENTRE LOS EXTRACTOS DE Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 1000 µg**

<b>Anova un Factor:</b>	1000 µg MUERTES				
<b>Variable Respuesta:</b>	PLANTAS				
<b>Variable Explicación:</b>	15				
	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>G.L.</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>F-valor</b>	<b>p-Valor</b>
Entre Grupos	137,7333	4	34,4333	73,7857	0,0002E-3
Dentro Grupos	4,6667	10	0,4667		
Total (corr.)	142,4000	14			

La aplicación de anova un factor entre resultados de mortalidad de los extractos de Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) a una concentración de 1000 ug permite identificar que al menos existe un grupo heterogéneo con el resto, lo que se comprueba en el test siguiente.

**CUADRO N°19: COMPARACIONES MULTIPLES TUKEY HSD 95% DE LOS EXTRACTOS DE Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 1000 µg.**

<b>Anova un Factor, Comparaciones Múltiples</b>			
<b>Variable Respuesta:</b>	1000 µg MUERTOS		
<b>Variable Explicativa:</b>	PLANTAS		
<b>Números de Casos:</b>	15		
<b>Método: Tukey HSD al 95,00%</b>			
<b>PLANTAS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
Insulina	3	1,6667	X
Pumín	3	2,3333	X
Chisag	3	2,6667	X
Arrayán	3	4,3333	X
Iso	3	10,0000	X
<b>Contraste</b>	<b>Diferencia</b>		<b>+/- Limite</b>
Insulina VS Pumín	-0,6667		1,8358
Insulina VS Arrayán	*-2,6667		*1,8358
Insulina VS Chisag	-1,0000		1,8358
Insulina VS Iso	*-8,3333		*1,8358
Pumín VS Arrayán	*-2,0000		*1,8358
Pumín VS Chisag	-0,3333		1,8358
Pumín VS Iso	*-7,6667		*1,8358
Arrayán VS Chisag	1,6667		1,8358
Arrayán VS Iso	*-5,6667		*1,8358
Chisag VS Iso	*-7,3333		*1,8358

\*DIFERENCIA ESTADÍSTICA SIGNIFICATIVA.

Aquí se puede observar que los resultados de mortalidad con los extractos de Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*) son homogéneos, es decir, no hay diferencias significativas entre estos. Los resultados con el extracto de Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*) son significativamente diferentes de los anteriores, sin llegar a ser homogéneos con los resultados con el extracto de Iso (*Dalea mutisii*).



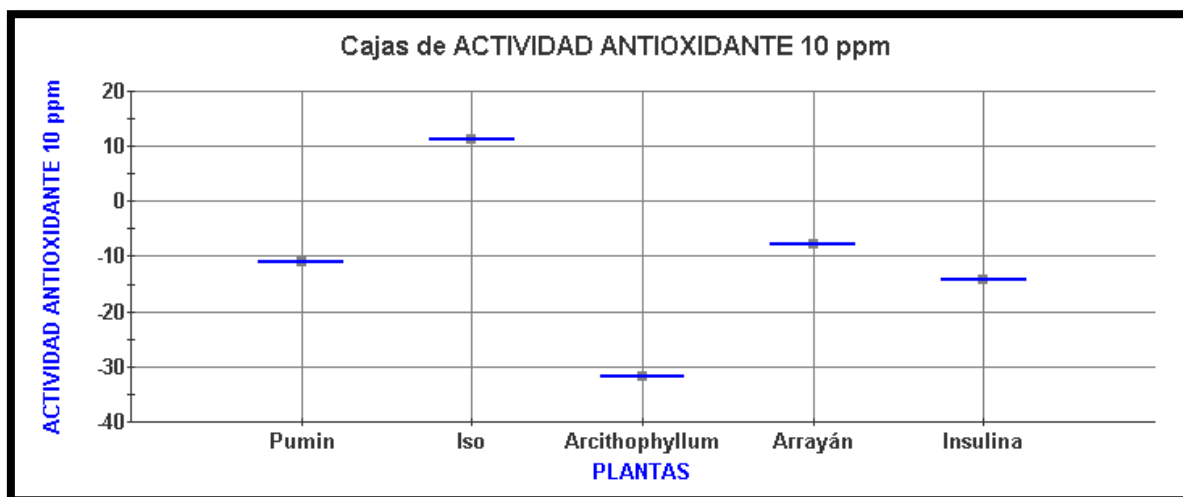
Los resultados con el extracto de Iso (*Dalea mutisii*) son significativamente distintos a todos los demás, por lo que se puede decir que definitivamente el extracto de esta planta es el más citotóxico de todos a esta concentración, seguido, en potencia, por el extracto de arrayán.

### 3.5 DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

**CUADRO N° 20: ESTADÍSTICO PARA LA VARIABLE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 10ppm para plantas**

GRUPOS	Pumín	Iso	Chisag	Arrayán	Insulina
N	3	3	3	3	3
Media	-11,1111	111.111	-31,7461	-7,9365	-14,2857
Varianza	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Desviación Típica	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Mínimo	-11,1111	11,1111	-31,7461	-7,9365	-14,2857
Máximo	-11,1111	11,1111	-31,7461	-7,9365	-14,2857

**FIG N° 6: CAJAS Y ALAMBRES PARA EL ANÁLISIS DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 10 ppm**



Las actividades de todos los extractos se encuentran absolutamente centralizadas sin mostrar ninguna varianza entre repeticiones. A primera vista se puede observar que la actividad máxima está dada por el extracto de Iso (*Dalea mutisii*), seguida por los extractos de Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*) y por último, Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*), lo que es reafirmado a través del siguiente test.

**CUADRO N° 21: COMPARACIONES MULTIPLES TUKEY HSD 95% DE LOS EXTRACTOS DE Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 10 ppm.**

<b>Anova un Factor, Comparaciones Múltiples</b>			
<b>Variable Respuesta:</b>	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE 10ppm		
<b>Variable Explicativa:</b>	PLANTAS		
<b>Número de Casos:</b>	15		
<b>Método Tukey HSD al 95,008</b>			
<b>PLANTAS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<b>Chisag</b>	3	-31,7461	X
<b>Insulina</b>	3	-14,2857	X
<b>Pumín</b>	3	-11,1111	X
<b>Arrayán</b>	3	-7,9365	X
<b>Iso</b>	3	11,1111	X
<b>Contraste</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/-Límite</b>	
<b>Pumín VS Iso</b>	*-22,2222	*0,0000	
<b>Pumín VS Chisag</b>	*20,6350	*0,0000	
<b>Pumín VS Arrayán</b>	*-3,1746	*0,0000	
<b>Pumín VS Insulina</b>	*3,1746	*0,0000	
<b>Iso VS Chisag</b>	*42,8572	*0,0000	
<b>Iso VS Arrayán</b>	*19,0476	*0,0000	
<b>Iso VS Insulina</b>	*25,3968	*0,0000	
<b>Chisag VS Arrayán</b>	*-23,8096	*0,0000	
<b>Chisag VS Insulina</b>	*-17,4604	*0,0000	
<b>Arrayán VS Insulina</b>	*6,3492	*0,0000	
<b>p-valor</b>	0,0073		

---

---

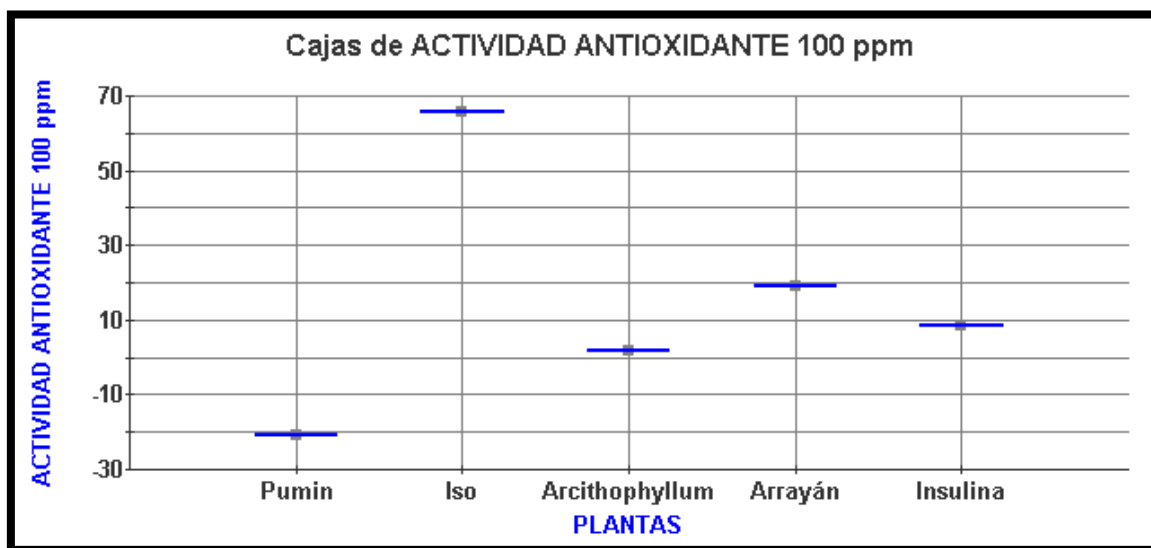
\*DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA.

Ya que el p-valor es menor a 0.05, se acepta la hipótesis alternativa, que dice que al menos uno de los grupos es diferente del resto. En esta tabla se puede observar que no existen grupos homogéneos a esta concentración, es decir, todos son estadísticamente diferentes entre sí, por lo que se puede afirmar a ciencia cierta que de mayor a menor, la actividad antioxidante de los diferentes extractos va en este orden: Iso (*Dalea mutisii*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*).

**CUADRO N° 22: ESTADÍSTICO PARA LA VARIABLE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 100ppm para plantas**

<b>Grupo</b>	<b>Pumín</b>	<b>Iso</b>	<b>Chisag</b>	<b>Arrayán</b>	<b>Insulina</b>
<b>N</b>	3	3	3	3	3
<b>Media</b>	-20,6349	65,6566	1,5873	19,0476	8,5714
<b>Varianza</b>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
<b>Desviación Típica</b>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
<b>Mínimo</b>	-20,6349	65,6566	1,5873	19,0476	8,5714
<b>Máximo</b>	-20,6349	65,6566	1,5873	19,0476	8,5714

FIG N° 7: CAJAS Y ALAMBRES PARA EL ANÁLISIS DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 100 ppm



Las actividades de todos los extractos se encuentran absolutamente centralizadas sin mostrar ninguna varianza entre repeticiones. A primera vista se puede observar que la actividad máxima está dada por el extracto de Iso (*Dalea mutisii*), seguida por los extractos de Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*) y por último, Pumín (*Salvia squalens*), lo que es reafirmado a través del siguiente test.

CUADRO N° 23: COMPARACIONES MULTIPLES TUKEY HSD 95% DE LOS EXTRACTOS DE Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 100 ppm.

<b>Anova un Factor, Comparaciones Múltiples</b>			
<b>Variable Respuesta:</b>	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE 100ppm		
<b>Variable Explicativa:</b>	PLANTAS		
<b>Número de Casos:</b>	15		
<b>Método Tukey HSD al 95,008</b>			
<b>PLANTAS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos homogéneos</b>
Pumín	3	-20,6349	X
Chisag	3	1,5873	X
Insulina	3	8,5714	X
Arrayán	3	19,0476	X
Iso	3	65,6566	X
<b>Contraste</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/-Límite</b>	
Pumín VS Iso	*-80,2915	*0,0000	
Pumín VS Chisag	*-22,2222	*0,0000	
Pumín VS Arrayán	*-39,6825	*0,0000	
Pumín VS Insulina	*-29,2063	*0,0000	
Iso VS Chisag	*64,0693	*0,0000	
Iso VS Arrayán	*46,6089	*0,0000	
Iso VS Insulina	*57,0851	*0,0000	
Chisag VS Arrayán	*-17,4603	*0,0000	
Chisag VS Insulina	*-6,9841	*0,0000	
Arrayán VS Insulina	*10,4762	*0,0000	
p- valor	0,0073		

\*DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA.

Ya que el p-valor es menor a 0.05, se acepta la hipótesis alternativa, que dice que al menos uno de los grupos es diferente del resto. En esta tabla se puede ver que no existen grupos homogéneos a esta concentración, es decir, todos son estadísticamente diferentes entre si, por lo que se puede afirmar a ciencia cierta que de mayor a menor, la actividad antioxidante de los diferentes extractos va en este orden: Iso (*Dalea mutisii*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*),

Chisag (*Arcythophyllum thymifolium*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Pumín (*Salvia squalens*). El comportamiento de los extractos de (*Justicia chlorostachya*) y Pumín (*Salvia squalens*), que no presentan la actividad antioxidante esperada respecto a las pruebas a la concentración menor, puede deberse a la presencia de metabolitos que al aumentar en concentración forman agregados que impiden la actividad de las moléculas antioxidantes en forma no ligada.

A una concentración de 1000 ppm, todos los extractos presentan un 100% de inhibición de la oxidación, por lo tanto, son totalmente homogéneos entre si y no es posible definir diferencias a esta concentración.

## CAPÍTULO IV

### 4 CONCLUSIONES

1. Los ensayos de calidad de las drogas crudas revelaron que los materiales se encontraron en buenas condiciones para la posterior elaboración de un extracto fluido, la ausencia de contaminación indica que su secado producido a una temperatura de 13 °C fue el óptimo para evitar la pérdida de actividad terapéutica y la degradación por exceso de humedad.
2. Se establece que la especie vegetal que mayor actividad citotóxica presenta es *Dalea mutisii* ya que a concentraciones de 10 µg el porcentaje de mortalidad es del 93.33% datos presentes en ANEXO N°4. También se detecta mediante cálculos de porcentaje de mortalidad que el extracto obtenido de *Justicia chlorostachya*, es la especie vegetal que menos actividad citotóxica presenta ya que a una concentración de 1000µg tenemos un porcentaje de mortalidad del 16,67% datos presentes en ANEXO N°1 , debemos destacar que el porcentaje de mortalidad no solo nos indica la actividad citotóxica de una planta, sino también la actividad farmacológica que puede presentar por lo que se puede decir que, en este extracto se evidencia la presencia de principios activos con actividad farmacológica.
3. El extracto que posee un grado elevado de actividad antioxidante es el extracto fluido de *Dalea mutisii* ya que a una concentración de 10ppm se obtiene un 11.11% de actividad antioxidante que va aumentando a medida que aumenta la concentración del extracto datos presentes en CUADRO N°21.

4. Podemos decir también que existen especies vegetales que en lugar de actuar con efectos antioxidantes, inducen a la oxidación de los compuestos tal es el caso de *Salvia squalensque* a concentraciones de 10ppm se obtiene un valor negativo que nos indica la inducción de la oxidación de -11,21% y 100ppm de -20,96% datos presentes en CUADRO N°21, 22.



## CAPÍTULO V

### 5 RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar estudios fitoquímicas con el fin de identificar, separar y elucidar las moléculas presentes en el extracto hidroalcohólico con el fin de generar compuestos antioxidantes y citotóxicos específicos para el tratamiento de problemas en la población en general
2. Se sugiere realizar una investigación farmacológica sobre el uso indiscriminado de estas especies vegetales sobre sus posibles efectos adversos, interacciones y contraindicaciones que pueden causar en la población que las usa.
3. Se recomienda realizar pruebas en animales de experimentación tales como: cobayos o ratas para obtener datos extrapolables a los seres humanos ya que existe en algunas especies vegetales un grado de actividad citotóxica muy elevado pudiendo causar a largo plazo problemas en la salud de las personas que las consumen.

## CAPÍTULO VI

### 6 RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar mediante screening la actividad antioxidante y citotóxica en *Artemia salina* de: *Arcythophyllum thymifolium*, *Salvia squalens*, *Justicia chlorostachya*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Dalea mutisii*”.

Basado en ensayos de capacidad antioxidante según el método enzimático de inhibición de la polifenoloxidasas que fue realizado con ayuda de un espectrofotómetro a extractos de plantas mencionadas a diferentes concentraciones en comparación con vitamina C, además del ensayo de citotoxicidad en *Artemia salina* usada como material biológico, cultivada en una pecera dividida en dos partes por una malla, en solución salina al 0,9 % se obtuvo los siguientes resultados.

Concentración de 10µg presentan un grado de actividad citotóxica: *Arcythophyllum thymifolium* 13,33%, *Salvia squalens* 3,33%, *Justicia chlorostachya* 3,33%, *Myrcianthes rhopaloides* 3,33% *Dalea mutisii* 93,33% a 100µg: *Arcythophyllum thymifolium* 16,67%, *Salvia squalens* 16,67%, *Justicia chlorostachya* 13,33%, *Myrcianthes rhopaloides* 16,67% *Dalea mutisii* 96,67%, a 1000µg: *Arcythophyllum thymifolium* 26,67%, *Salvia squalens* 23,33%, *Justicia chlorostachya* 16,67%, *Myrcianthes rhopaloides* 43,33% *Dalea mutisii* 100%. Actividad antioxidante a concentración de 10ppm presentan un grado de actividad antioxidante: *Arcythophyllum thymifolium* -31,75%, *Salvia squalens* -11,21%, *Justicia*

*chlorostachya* -14,29%, *Myrcianthes rhopaloides* -7,29% *Dalea mutisii* 11,11%, de 100ppm: *Arcythophyllum thymifolium* -1,59%, *Salvia squalens* -20,96%, *Justicia chlorostachya* 8,57%, *Myrcianthes rhopaloides* 19,05% *Dalea mutisii* 65,66%, a 1000ppm todas las especies presentan el 100% de actividad antioxidante.

Se concluyo que la especie que mayor actividad citotóxica y antioxidante presenta es *Dalea mutisii* ya que a concentraciones de 10 µg el porcentaje de mortalidad es de 93.33%. y a 10ppm posee 11.11% de actividad antioxidante que aumenta a la par con la concentración.

Se recomienda realizar estudios fitoquímicos para identificar, separar y elucidar las moléculas presentes en el extracto para generar compuestos antioxidantes y citotóxicos específicos en el tratamiento de enfermedades

## SUMMARY

The present work aims to determine through screening, the antioxidant and cytotoxic activity in *Artemia salina* of: *Arcytophyllum thymifolium*, *Salvia squalens*, *Justicia chlorostachya*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Dalea mutisii*.

Based upon antioxidant capacity tests according to the inhibition enzymatic method of poliphenoloxidas which was developed with help of a spectrophotometer to the extracts of the mentioned plants at different concentrations compared with vitamin C, besides the toxicity test in *Artemia salina* used as a biological material, cultivated in a fish bowl divided into two by a net, in a saline solution at 0,9%, the following results were obtained.

Concentration of 10µg, show a cytotoxic activity rate: *Arcytophyllum thymifolium* 13,33%, *Salvia squalens* 3,33%, *Justicia chlorostachya* 3,33%, *Myrcianthes rhopaloides* 3,33%, *Dalea mutisii* 93,33%. To 100µg: *Arcytophyllum thymifolium* 16,67%, *Salvia squalens* 16,67%, *Justicia chlorostachya* 13,33%, *Myrcianthes rhopaloides* 16,67%, *Dalea mutisii* 96,67%, at 1000µg: *Arcytophyllum thymifolium* 26,67%, *Salvia squalens* 23,33%, *Justicia chlorostachya* 16,67%, *Myrcianthes rhopaloides* 43,33%, *Dalea mutisii* 100%. Antioxidant activity at concentration of 10ppm shows an antioxidant activity rate: *Arcytophyllum thymifolium* -31,75%, *Salvia squalens* -11,21%, *Justicia chlorostachya* -14,29%, *Myrcianthes rhopaloides* -7,29%, *Dalea mutisii* -11,11%, of 100ppm: *Arcytophyllum thymifolium* -1,59%, *Salvia squalens* -20,96%, *Justicia chlorostachya* 8,57%, *Myrcianthes rhopaloides* 19,05%, *Dalea mutisii* 65,66%, at 1000ppm, all the species show a 100% antioxidant activity.

It is concluded that the species the highest antioxidant and cytotoxic activity is *Dalea mutisii* since at concentrations of 10µg the mortality percentage is 93,33% and at 10ppm it has 11,11% of antioxidant activity which increases altogether with concentration.

It is recommended to develop phytochemical research in order to identify, separate and elucidate the molecules present in the extract to generate specific antioxidant and cytotoxic compounds in the treatment of diseases.

## CAPÍTULO VII

### 7 BIBLIOGRAFÍA

1. **BERDONCES, J.L.**, Principios activos y preparaciones farmacéutica., San Vicente –España., Club Universitario., 1994-1995., Pp. 37-38,50-53
2. **BUCHANON, R.**, Manual de determinaciones Bacteriológicas., México, D. F.–México., Interamericana., 1984., Pp. 217-221
3. **CAÑIGUERAL, S.**, “Identidad y pureza de drogas vegetales y extractos. Seminario Taller sobre Estandarización de Extractos Vegetales y Garantía de Calidad de Productos Fitoterápicos”. Cartagena–Colombia., 2003., Pp. 24-25
4. **CERRUTI, T.**, Plantas Medicinales Cultivo, información y forma de uso., EsSalud – IMET., Iquitos – Perú., 2000., Pp. 100, 101

5. **FERREIRA, R.**, El sistema de defensas antioxidantes., Monografía., Estrés oxidativo y antioxidante., Buenos Aires–Argentina., 1995., Pp.43,45
  
6. **GARCIA, C.**, “Característica de las Fracciones Extractable Contenidas en el fruto del Palo de Cera, Palo de Arrayán o Palo de Cera San Pascual (*Myrica cerífera* L)”.., Centro de Investigación de Ingeniería Universidad de San Carlos., San Carlos –Guatemala., 2002., Pp. 11-15
  
7. **GATTUSO, M.**, Manual de procedimientos para el análisis de drogas en polvos., Buenos Aires–Argentina., UNR.Rosario., 1999., Pp.6-18
  
8. **GLASER, V.**, Billion-dollar market blossoms as botanicaís take root., Norwich–Inglaterra., Nat. Biotechnol., 1999., Pp.32.
  
9. **HALLIWELL, B.**, Current status review: free radicals, reactive oxygen, species and human disease a critical evaluation with special reference to atherosclerosis., Washington D. C.–Estados Unidos de América., Academic Press., 1982., Pp. 154-159

10. **HEIDE, L.**, Traditionelle Arzneipflanzen in der Gesundheitsversorgung der dritten Welt-Möglichkeiten and Grenzen. Zeitschrift für Phytotherapie., Michigan–Estados Unidos de America., Medical Economics Company., Pp. 1-8, 12
  
11. **ILYARASKIN, D. y otros.**, Plants and human health in the twenty-first century., Washington D. C.–Estados Unidos de America., Trends in Biotechnology., 2002., Pp. 2, 522-531
  
12. **LIZCANO, A.**, “Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanolitos de las especies vegetales”., Bogotá – Colombia., 2008., Pp. 57,62, 70
  
13. **LOCK, O.**, “Análisis Fitoquímico y Metabolitos secundarios”., Caracas–Venezuela., EsSalud. pp. 15-19.
  
14. **MARTINEZ, J.**, Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas., Santiago – Chile., Blacpma., 2009., Pp. 12,13
  
15. **McMURRY, J.**, Química orgánica. 6ª ed. ISBN: 9706863540., La Habana–Cuba., Cengage Learning., 2006., Pp. 322-325

**16. MIRANDA, M.**, Métodos de análisis de Drogas y Extractos., La Habana–Cuba., Universidad de la Habana, Instituto de farmacia y alimentos., 1996., Pp. 57-79

**17. PORETSKY, L.**, Principal of Diabetes Mellitus., Second Edition., New York–Estados Unidos de América., 2008., Pp. 35-37

**18. STOJANONSKA, L. y otros.**, 1990. Evolution of dexamethasone – induced insulin resistant in rat., Washington D. C.–Estados Unidos de América., 1990., Pp. 748-856

**19. VARGAS, L. y otros.**, De Salvia y toronjil Guia de Medicina Natural para la Salud de la mujer., Lima–Perú., Grafico Bellido., 1995., Pp: 81

**20. WAGNER, H.**, “Plant Drug Analysis”., Alemania–Berlin., Sacott., 1983., Pp. 163 – 165, 299-304

**21. PROGRAMA IBEROAMERICANO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA PARA EL DESARROLLO (CYTED).**, Directorio de la Red Iberoamericana de



productos Fitofarmaceuticos., Ciudad de Guatemala–  
Guatemala., 2002., Pp. 23-28

**22. PROGRAMA IBEROAMERICANO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA PARA EL  
DESARROLLO (CYTED).**, Manual de tecnología de  
investigación. Subprograma X Química Fina farmacéutica.,  
Ciudad de Guatemala–Guatemala., 1995., Pp. 22-25

**23. PROGRAMA IBEROAMERICANO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA PARA EL  
DESARROLLO (CYTED).**, Manual de tecnología de  
investigación. Subprograma XI Química Fina farmacéutica.,  
Ciudad de Guatemala–Guatemala., 1997., Pp. 20,21

**24. PROGRAMA IBEROAMERICANO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA PARA EL  
DESARROLLO (CYTED).**, Directorio de la Red Iberoamericana  
de productos productos Fitofarmaceuticos., Ciudad de  
Guatemala–Guatemala., 2004., Pp. 20-23

**25. REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA.**, 2ª Ed., Madrid– España.,  
Ministerio de Salud y Consumo., 2002., Pp. 2801

- 26. GONCALVES, F., Revista.**, “Antibacterial Activity of Guava, *Psidium guajava* Linnaeus, Leaf Extracts On Diarrhea-Causing Enteric Bacteria Isolated From Seabob Shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri* (HELLER)”, Sao Paulo–Brasil., Vol. 50., 2008., Pp. 1, 11- 15
- 27. HOSTETTMANN, K., Revista .**, Methods in Plant Biochemistry., Vol. 6., London–Reino Unido., Academic Press., Pp. 9-11, 25-32
- 28. ISHIDA M. y otros., Revista .**, Topical preparations containing ursolic acid and/or oleanolic acid for prevention of skin cancer effects of ursolic acid and oleanolic acid on human colon carcinoma celine HCT1 5., Vol. 8., Chicago–Estados Unidos de América., World J Gastroenterol ., 2002., pp. 493-500
- 29. KINTNZIOS, E., Revista.**, *Salvia Squalens*, Sage, The Genus *Salvia*., Vol 30., Revista de ciencia y tecnología de América, ISSN 03 78-1 844., La Habana– Cuba., Taylor & Francis e Library 200511 TINTERCIENCIA., 2005., Pp.453-459
- 30. KINTNZIOS, E., Revista.**, *Salvia Squalens*, Sage, The Genus *Salvia*., Vol. 31., Revista de ciencia y tecnología de América, ISSN 03

78-1 844., La Habana– Cuba., Taylor & Francis e Library.,  
2006., Pp. 45-47

**31. KINTNZIOS, E., Revista.,** Salvia Squalens, Sage, The Genus Salvia.,  
Vol. 32., Revista de ciencia y tecnología de América, ISSN 03  
78-1 844., La Habana–Cuba., Taylor & Francis e Library.,  
2007., Pp. 49-52

**32. KNIGHT, J., Revista.,** Free radicals their history and current status in  
aging and disease., Vol VI., New York–Estados Unidos de  
America., Ann ClinLabSci., 2009., Pp. 33-46

**33. LOPEZ, R., Revista.,** “Características Físico – Química de *Passiflora*  
*incarnata* L. Para su Uso en la Industria Farmacéutica”. Vol.  
19(1)., La Habana–Cuba., 2007., Pp: 79,79,80

**34. PALOMINO, E., Revista.,** Estudio Fitoquímico del Aceite Esencial  
de *Psidium caudatum* Revista Colombiana de Ciencias  
Químico- Farmacéuticas., Bogotá–Colombi., Mc Vaugh.,  
2005., Pp. 18

- 35. ROCHE, M., Revista.,** Ciencia y tecnología de America, ISSN 03 78-1 844, Vol. 30., Caracas–Venezuela., 2005., Pp.453-459
- 36. ROSALES, C., Revista.,** Evaluación farmacológica de *Pluchea carolinensis* Jacq.(Salvia de playa) en animales de experimentación ISSN 1028-4796., Vol. 6., La Habana–Cuba., 1999., Pp. 65-67
- 37. SANCHEZ, E., Revista.,** Caracterización farmacognóstica de *Salvia officinalis* L.Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM)., La Habana–Cuba., 2005., Pp.10
- 38. SANCHEZ, J. y otros., Revista.,** Algunos parámetros farmacognósticos de plantas medicinales., Parte 1., La Habana–Cuba., 1985., Pp 19, 450-453
- 39. BODERO, M.,** Estudio farmacognóstico y actividad antimicrobiana (*in vitro*) de los extractos fluidos de Arrayan y Pumín y su aplicación en una pasta dentífrica., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba- Ecuador., **TESIS.**, 2010., Pp. 30-37

**40. CONTERO, F.**, Screening y estudio fitoquímico de los extractos blandos de *Arcytophyllum thymifolium* y *Monnina obtusifolia*., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba-Ecuador., **TESIS.**, 2007., Pp. 57-55.

**41. PAZMIÑO, C.**, Determinación de la actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcoholico de *Justicia chlorostachya Leonard* (Insulina). En ratones con hiperglicemia inducida., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba- Ecuador., **TESIS.**, 2011., Pp. 45-48.

#### **42. Antioxidantes**

<http://www.euroresidentes.com/Alimentos/salud/antioxidantes.htm>

2012-03-12

#### **43. Árboles y Arbustos de los Andes del Ecuador**

[http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora\\_id=201&taxon\\_id=102508](http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=201&taxon_id=102508)

2012-03-12

**44. *Artemia salina*.**

<http://biblioteca.portalpez.com/la-artemia-salina-vp15740.html>

2012-03-15

**45. Cromatografías TLC**

[http://organical.org/1311/1311\\_6.pdf](http://organical.org/1311/1311_6.pdf)

2012-05-02

**46. INFOJARDIN**

<http://www.infojardin.com/foro/showthread.php?t=202182>

2012-05-05

**47. IUPAC**

<http://goldbook.iupac.org/R05066.html>

2012-05-06

**48. Química Orgánica**

[http://organical.org/1311/1311\\_6.pdf](http://organical.org/1311/1311_6.pdf)

2012-05-06

**49. *Salvia squalens***

<http://www.flickr.com/photos/salvias/2413872741/>

2012-05-06

**50. Southeastern Arizona Wildflowers and Plants**

<http://www.fireflyforest.com/flowers/945/dalea-purpurea-purple-prairie-clover/>

2012-06-07

**51. The Firefly Forest**

<http://fireflyforest.net/firefly/2006/02/13/santa-catalina-prairie-clover/>

2012-06-10

**52. What Are Medicinal Plants?**

<http://www.wisegeek.com/what-are-medicinal-plants.htm>

2012-06-12

## CAPÍTULO VIII

### 8 ANEXO

ANEXO N° 1: CITOTOXICIDAD DE EXTRACTO FLUIDOS DE INSULINA (*Justicia chlorostachya*), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012

INSULINA ( <i>Justicia chlorostachya</i> )											
10 µg			100 µg			1000 µg					
BLANCO	PRIM.	SEG.	TER.	PRIM.	SEG.	TER.	PRIM.	SEG.	TER.		
10	10	10	9	9	9	8	8	9	8		
Med. Vivos			9,667	Med. Vivos			8,667	Med. Vivos			8,333
Med. Muer			0,333	Med. Muer			1,333	Med. Muer			1,667
%MORTALIDAD		3,33	% MORTALIDAD		13,33	% MORTALIDAD		16,67			

ANEXO N°2: CITOTOXICIDAD DE EXTRACTO FLUIDOS DE PUMÍN (*Salvia squalens*), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012

PUMÍN ( <i>Salvia squalens</i> )											
10 µg			100 µg			1000 µg					
BLANCO	PRIM.	SEG.	TER.	PRIM.	SEG.	TER.	PRIM.	SEG.	TER.		
10	9	10	10	8	9	8	8	7	8		
Med. Vivos			9,667	Med. Vivos			8,333	Med. Vivos			7,667
Med. Muer			0,333	Med. Muer			1,667	Med. Muer			2,333
% MORTALIDAD		3,33	% MORTALIDAD		16,67	% MORTALIDAD		23,33			



**ANEXO N°3: CITOTOXICIDAD DE EXTRACTO FLUIDOS DE ARRAYÁN (*Myrcianthes rhopaloides*), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012**

<b>ARRAYÁN (<i>Myrcianthes rhopaloides</i>)</b>									
<b>10 µg</b>				<b>100 µg</b>			<b>1000 µg</b>		
BLANCO	PRIM.	SEG.	TER.	PRIM.	SEG.	TER.	PRIM.	SEG.	TER.
10	9	10	10	8	9	8	7	5	5
<b>Med. Vivos</b>			9,667	<b>Med. Vivos</b>		8,333	<b>Med. Vivos</b>		5,667
<b>Med. Muer</b>			0,333	<b>Med. Muer</b>		1,667	<b>Med. Muer</b>		4,333
<b>% MORTALIDAD</b>		3,33	<b>% MORTALIDAD</b>		16,67	<b>% MORTALIDAD</b>		43,33	

**ANEXO N°4: CITOTOXICIDAD DE EXTRACTO FLUIDOS DE ISO (*Dalea mutisii*), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012**

<b>ISO (<i>Dalea mutisii</i>)</b>									
<b>10 µg</b>				<b>100 µg</b>			<b>1000 µg</b>		
BLANCO	PRIM.	SEG.	TER.	PRIM.	SEG.	TER.	PRIM.	SEG.	TER.
10	1	0	1	1	0	0	0	0	0
<b>Med. Vivos</b>			0,667	<b>Med. Vivos</b>		0,333	<b>Med. Vivos</b>		0
<b>Med. Muer</b>			9,333	<b>Med. Muer</b>		9,667	<b>Med. Muer</b>		10
<b>% MORTALIDAD</b>		93,33	<b>% MORTALIDAD</b>		96,67	<b>% MORTALIDAD</b>		100	

**ANEXO N°5: CITOTOXICIDAD DE EXTRACTO FLUIDOS DE CHISAG *Arcytophyllum thymifolium* Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012**

<b>ARCITOPHYLLUN</b>									
<b>10 µg</b>				<b>100 µg</b>			<b>1000 µg</b>		
BLANCO	PRIM.	SEG.	TER.	PRIM.	SEG.	TER.	PRIM.	SEG.	TER.
10	9	9	8	9	8	8	8	7	7
<b>Med. Vivos</b>			8,667	<b>Med. Vivos</b>		8,333	<b>Med. Vivos</b>		7,333
<b>Med. Muer</b>			1,333	<b>Med. Muer</b>		1,667	<b>Med. Muer</b>		2,667
<b>% MORTALIDAD</b>		13,33	<b>% MORTALIDAD</b>		16,67	<b>% MORTALIDAD</b>		26,67	

ANEXO N° 6: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FLUIDOS DE PUMÍN (*Salvia squalens*), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE PUMÍN ( <i>Salvia squalens</i> )										
TIEMPO (S)	10 µL			100 µL			1000 µL			
	BLANCO	PRIM	SEG	TERC	PRIM	SEG	TERC	PRIM	SEG	TERC
1	0,063	0,085	0,087	0,089	0,104	0,102	0,100	0,322	0,323	0,324
15	0,066	0,092	0,094	0,096	0,111	0,109	0,107	0,322	0,323	0,324
30	0,070	0,095	0,097	0,099	0,117	0,115	0,113	0,322	0,323	0,324
45	0,075	0,100	0,102	0,104	0,122	0,120	0,118	0,322	0,323	0,324
60	0,079	0,104	0,106	0,108	0,128	0,126	0,124	0,322	0,323	0,324
75	0,084	0,109	0,111	0,113	0,134	0,132	0,130	0,322	0,323	0,324
90	0,090	0,115	0,117	0,119	0,141	0,139	0,137	0,322	0,323	0,324
105	0,096	0,121	0,123	0,125	0,147	0,145	0,143	0,322	0,323	0,324
120	0,102	0,128	0,130	0,132	0,155	0,153	0,151	0,322	0,323	0,324
135	0,108	0,135	0,137	0,139	0,162	0,160	0,158	0,322	0,323	0,324
150	0,114	0,141	0,143	0,145	0,168	0,166	0,164	0,322	0,323	0,324
165	0,121	0,148	0,150	0,152	0,175	0,173	0,171	0,322	0,323	0,324
180	0,126	0,155	0,157	0,159	0,180	0,178	0,176	0,322	0,323	0,324

ANEXO N° 7: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FLUIDOS DE ISO (*Dalea mutisii*), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE ISO ( <i>Dalea mutisii</i> )										
TIEMPO (S)	BLANCO	10 µL			100 µL			1000 µL		
		PRIM	SEG	TERC	PRIM	SEG	TERS	PRIM	SEG	TERC
1	0,107	0,118	0,120	0,122	0,272	0,269	0,266	0,469	0,468	0,467
15	0,115	0,123	0,125	0,127	0,270	0,267	0,264	0,469	0,468	0,467
30	0,123	0,127	0,129	0,131	0,271	0,268	0,265	0,469	0,468	0,467
45	0,131	0,133	0,135	0,137	0,273	0,270	0,267	0,469	0,468	0,467
60	0,141	0,140	0,142	0,144	0,275	0,272	0,269	0,469	0,468	0,467
75	0,150	0,147	0,149	0,151	0,278	0,275	0,272	0,469	0,468	0,467
90	0,159	0,155	0,157	0,159	0,281	0,278	0,275	0,469	0,468	0,467
105	0,168	0,164	0,166	0,168	0,285	0,282	0,279	0,469	0,468	0,467
120	0,177	0,173	0,175	0,177	0,289	0,286	0,283	0,469	0,468	0,467
135	0,184	0,182	0,184	0,186	0,293	0,290	0,287	0,469	0,468	0,467
150	0,193	0,190	0,192	0,194	0,298	0,295	0,292	0,469	0,468	0,467
165	0,199	0,198	0,200	0,202	0,302	0,299	0,296	0,469	0,468	0,467
180	0,206	0,206	0,208	0,210	0,306	0,303	0,300	0,469	0,468	0,467

ANEXO N° 8: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FLUIDOS DE CHISAG (*Arcytophyllum thymifolium*), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE CHISAG ( <i>Arcytophyllum thymifolium</i> )										
TIEMPO (S)	BLANCO	10 µL			100 µL			1000 µL		
		PRIM	SEG	TERC	PRIM	SEG	TERC	PRIM	SEG	TERC
1	0,063	0,092	0,090	0,088	0,108	0,109	0,110	0,393	0,392	0,391
15	0,066	0,095	0,093	0,091	0,112	0,113	0,114	0,393	0,392	0,391
30	0,070	0,099	0,097	0,095	0,116	0,117	0,118	0,393	0,392	0,391
45	0,075	0,104	0,102	0,100	0,120	0,121	0,122	0,393	0,392	0,391
60	0,079	0,109	0,107	0,105	0,124	0,125	0,126	0,393	0,392	0,391
75	0,084	0,117	0,115	0,113	0,130	0,131	0,132	0,393	0,392	0,391
90	0,090	0,126	0,124	0,122	0,135	0,136	0,137	0,393	0,392	0,391
105	0,096	0,135	0,133	0,131	0,141	0,142	0,143	0,393	0,392	0,391
120	0,102	0,142	0,140	0,138	0,147	0,148	0,149	0,393	0,392	0,391
135	0,108	0,151	0,149	0,147	0,154	0,155	0,156	0,393	0,392	0,391
150	0,114	0,159	0,157	0,155	0,160	0,161	0,162	0,393	0,392	0,391
165	0,121	0,167	0,165	0,163	0,165	0,166	0,167	0,393	0,392	0,391
180	0,126	0,175	0,173	0,171	0,170	0,171	0,172	0,393	0,392	0,391

ANEXO N° 9: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FLUIDOS DE ARRAYÁN (*Myrcianthes rhopaloides*), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ARRAYÁN ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> )										
TIEMPO (S)	BLANCO	10 µL			100 µL			1000 µL		
		PRIM	SEG	TERC	PRIM	SEG	TERC	PRIM	SEG	TERC
1	0,063	0,069	0,068	0,067	0,094	0,093	0,092	0,238	0,240	0,242
15	0,066	0,077	0,076	0,075	0,097	0,096	0,095	0,238	0,240	0,242
30	0,070	0,081	0,080	0,079	0,102	0,101	0,100	0,238	0,240	0,242
45	0,075	0,086	0,085	0,084	0,108	0,107	0,106	0,238	0,240	0,242
60	0,079	0,091	0,090	0,089	0,113	0,112	0,111	0,238	0,240	0,242
75	0,084	0,097	0,096	0,095	0,118	0,117	0,116	0,238	0,240	0,242
90	0,090	0,103	0,102	0,101	0,122	0,121	0,120	0,238	0,240	0,242
105	0,096	0,109	0,108	0,107	0,126	0,125	0,124	0,238	0,240	0,242
120	0,102	0,114	0,113	0,112	0,131	0,130	0,129	0,238	0,240	0,242
135	0,108	0,120	0,119	0,118	0,135	0,134	0,133	0,238	0,240	0,242
150	0,114	0,126	0,125	0,124	0,139	0,138	0,137	0,238	0,240	0,242
165	0,121	0,132	0,131	0,130	0,142	0,141	0,140	0,238	0,240	0,242
180	0,126	0,137	0,136	0,135	0,145	0,144	0,143	0,238	0,240	0,242

ANEXO N° 10: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FLUIDOS DE INSULINA (*Justicia chlorostachya*), Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH. Enero 2012

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FLUIDOS DE INSULINA ( <i>Justicia chlorostachya</i> )										
TIEMPO (S)	10 µL			100 µL			1000 µL			
	BLANCO	PRIM	SEG	TER	PRIM	SEG	TERC	PRIM	SEG	TERC
1	0,047	0,060	0,062	0,064	0,186	0,190	0,194	0,465	0,468	0,471
15	0,049	0,063	0,065	0,067	0,188	0,192	0,196	0,465	0,468	0,471
30	0,052	0,065	0,067	0,069	0,190	0,194	0,198	0,465	0,468	0,471
45	0,053	0,068	0,070	0,072	0,193	0,197	0,201	0,465	0,468	0,471
60	0,057	0,071	0,073	0,075	0,195	0,199	0,203	0,465	0,468	0,471
75	0,060	0,074	0,076	0,078	0,197	0,201	0,205	0,465	0,468	0,471
90	0,062	0,077	0,079	0,081	0,200	0,204	0,208	0,465	0,468	0,471
105	0,065	0,080	0,082	0,084	0,203	0,207	0,211	0,465	0,468	0,471
120	0,069	0,084	0,086	0,088	0,204	0,208	0,212	0,465	0,468	0,471
135	0,072	0,088	0,090	0,092	0,209	0,213	0,217	0,465	0,468	0,471
150	0,075	0,092	0,094	0,096	0,212	0,216	0,220	0,465	0,468	0,471
165	0,079	0,096	0,098	0,100	0,215	0,219	0,223	0,465	0,468	0,471
180	0,082	0,100	0,102	0,104	0,218	0,222	0,226	0,465	0,468	0,471

**ANEXO N° 11: ESTADÍSTICO KRUSKAL-WALLIS PARA LOS EXTRACTOS DE Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 10 ppm.**

<b>Kruskal-Wallis</b>			
<b>Variable Respuesta:</b>	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE 10 ppm		
<b>Variable Explicativa</b>	PLANTAS		
<b>Número de Casos:</b>	15		
<b>Grupos</b>	<b>n</b>	<b>Suma de Rangos Rm</b>	<b>Rango medio</b>
<b>Pumín</b>	3	24,0000	8,0000
<b>Iso</b>	3	42,0000	14,0000
<b>Chisag</b>	3	6,0000	2,0000
<b>Arrayán</b>	3	33,0000	11,0000
<b>Insulina</b>	3	15,0000	5,0000
<b>Estadístico Kruskal-Wallis (sin corrección por empates): 13,5000</b>			
<b>Estadístico Kruskal-Wallis (sin corrección por empates): 14,0000</b>			
<b>Grupos de Libertad:</b>	4		

En este caso se utiliza el test de Kruskal Wallis, que es apto en grupos de datos que no tienen varianza entre repeticiones, para establecer si existen diferencias significativas entre los resultados de los diferentes extractos.

**ANEXO N° 12: ESTADÍSTICO KRUSKAL-WALLIS PARA LOS EXTRACTOS DE Chisag (*Arcytophyllum thymifolium*), Pumín (*Salvia squalens*), Insulina (*Justicia chlorostachya*), Arrayán (*Myrcianthes rhopaloides*), Iso (*Dalea mutisii*) 100 ppm.**

<b>Kruskal-Wallis</b>			
<b>Variable Respuesta:</b>	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE 100 ppm		
<b>Variable Explicativa</b>	PLANTAS		
<b>Número de Casos:</b>	15		
<b>Grupos</b>	<b>n</b>	<b>Suma de Rangos Rm</b>	<b>Rango medio</b>
<b>Pumín</b>	3	6,0000	2,0000
<b>Iso</b>	3	42,0000	14,0000
<b>Chisag</b>	3	15,0000	5,0000
<b>Arrayán</b>	3	33,0000	11,0000
<b>Insulina</b>	3	24,0000	8,0000
Estadístico Kruskal-Wallis (sin corrección por empates): 13,5000			
Estadístico Kruskal-Wallis (sin corrección por empates): 14,0000			
Grupos de Libertad:		4	

En este caso se utiliza el test de Kruskal Wallis, que es apto en grupos de datos que no tienen varianza entre repeticiones, para establecer si existen diferencias significativas entre los resultados de los diferentes extractos. Ya que el p-valor es menor a 0.05, se acepta la hipótesis alternativa, que dice que al menos uno de los grupos es diferente del resto.