



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**DETERMINACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS
EN LA CORTEZA DE *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.)
Briq. (CHUCHUHUASI) Y CUANTIFICACIÓN DE
FLAVONOIDES TOTALES**

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

AUTORA

GARCÍA CASTAÑEDA, ISOLINA MEDHALIT

ORCID: 0000-0002-8148-0872

ASESOR

LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

ORCID: 0000-0003-4125-3381

TRUJILLO – PERÚ

2021

EQUIPO DE TRABAJO

AUTORA

García Castañeda, Isolina Medhalit

ORCID: 0000-0002-8148-0872

Universidad Católica Los Ángeles Chimbote, Estudiante de Pregrado,

Trujillo-Perú

ASESOR

Leal Vera, César Alfredo

ORCID: 0000-0003-4125-3381

Universidad Católica Los Ángeles Chimbote, Facultad Ciencias de la

salud, Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica, Trujillo, Perú

JURADO

Ramírez Romero, Teodoro Walter

Orcid: 0000-0002-2809-709x

Arteaga Revilla, Nilda María

Orcid: 0000-0002-7897-8151

Matos Inga, Matilde Anais

Orcid: 0000-0002-3999-8491

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Mgtr.Ramírez Romero, Teodoro Walter

Presidente

Mgtr.Arteaga Revilla, Nilda María

Miembro

Mgtr.Matos Inga, Matilde Anais

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Asesor

AGRADECIMIENTO

A DIOS:

Por habitar en mi corazón

Y ser la fuerza que me

Impulsa a seguir adelante en cada
momento.

A mis padres:

Por su amor incondicional y apoyo
en todos estos años de estudios,
espero seguir a su lado hasta el
último día de mi vida.

A mis docentes:

Por compartir sus conocimientos y

Ser nuestros ejemplos en nuestra
vida profesional.

DEDICATORIA

A mis padres:

Por incentivar-me las ganas de estudiar y apoyarme en todos los retos que me propongo.

A mis hermanos:

Por ser el motor de mi vida
Espero ser un ejemplo para ellos
y siempre voy a estar para apoyarlos.

A mi bisabuela:

Por su amor y cuidado en mi niñez
Nunca la voy a olvidar gracias a ella
soy una mujer fuerte.

RESUMEN

El presente estudio fue de tipo descriptivo y nivel cuantitativo, tuvo como objetivo determinar los metabolitos secundarios presentes en la corteza de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (*chuchuhuasi*) y cuantificar los flavonoides totales presentes en el extracto fluido de *Maytenus macrocarpa*. Se trabajó con el método de percolación de la USP para la obtención del extracto fluido y para la identificación de fitoconstituyentes se trabajó con el método de Olga Lock Sing, Se procedió a la preparación de 6 extractos (2 etanólicos, 2 acuosos por decocción, 2 clorofórmicos) todos al 1% de acuerdo al método de obtención de los extractos, para identificar cualitativamente mediante la marcha fitoquímica a los metabolitos secundarios presentes en dichos extractos. Para la determinación del contenido total de flavonoides cuantificación de flavonoides (expresados como quercetina total), se prepararon 2 extractos al 10%, el primer extracto se obtuvo a partir del extracto fluido y el segundo por decocción de 5 minutos; el contenido total de flavonoides se midió con el ensayo colorimétrico de cloruro de aluminio, concluyendo que los metabolitos secundarios presentes en los 6 extractos fueron, principalmente los compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, antocianinas, azúcares reductores, alcaloides, saponinas y quinonas; además, la cantidad de flavonoides encontrados fueron 212.255 ± 0.102 mg y 181.059 ± 0.023 mg expresados en Equivalente a Quercetina por cada 100 g de Muestra seca obtenidos del extracto fluido y de la decocción de corteza de *M. macrocarpa*.

Palabras claves: *flavonoides, Maytenus macrocarpa (chuchuhuasi), metabolitos secundarios, percolación, quercetina.*

ABSTRACT

The present study was descriptive with a qualitative and quantitative approach, its objective was to determine the secondary metabolites present in the cortex of *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi) and quantify the total flavonoids present in the fluid extract of *Maytenus macrocarpa*. It was worked with the USP percolation method to obtain the fluid extract and to identify the phytoconstituents, we worked with the method of Olga Lock Sing, We proceeded to the preparation of 6 extracts (2 ethanolic, 2 aqueous by decoction, 2 chloroformic) all at 1% according to the method of obtaining the extracts, to qualitatively identify the secondary metabolites present in said extracts through the phytochemical march. For the determination of the total content of flavonoids quantification of flavonoids (expressed as total quercetin), 2 extracts were prepared at 10%, the first extract was obtained from the fluid extract and the second by decoction of 5 minutes; the total content of flavonoids was measured with the aluminum chloride colorimetric test, concluding that the secondary metabolites present in the 6 extracts were mainly phenolic compounds, flavonoids, tannins, anthocyanins, anthocyanins, reducing sugars, alkaloids, saponins and quinones; In addition, the amount of flavonoids found were $212,255 \pm 0.102$ mg and $181,059 \pm 0.023$ mg expressed as Equivalent to Quercetin per 100 g of dry sample obtained from the fluid extract and the decoction of *M. macrocarpa* bark.

Keywords: *flavonoids, phytochemical gait, Maytenus macrocarpa (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi), secondary metabolites, percolation, quercetin.*

CONTENIDO

EQUIPO DE TRABAJO	ii
JURADO EVALUADOR	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
DEDICATORIA.....	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
CONTENIDO.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
I.INTRODUCCIÓN.....	1
II.REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	4
2.1. Antecedentes.....	5
2.2. Bases teóricas.....	7
III.HIPÓTESIS.....	13
IV.METODOLOGÍA.....	14
4.1. Diseño de investigación.....	13
4.2. Población y muestra.....	13
4.3. Definición y operacionalización de las variables.....	14
4.4. Técnica e instrumentos.....	15
4.5. Plan de análisis.....	19
4.6. Matriz de consistencia.....	21
4.7. Principios éticos.....	24
V.RESULTADOS.....	25
5.1.Resultados.....	26
5.2.Análisis de resultados.....	27
VI.CONCLUSIONES.....	30
6.1.Conclusiones.....	30
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS.....	30
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
ANEXOS.....	37

ÍNDICE DE TABLAS

CONTENIDO

Tabla 01: Presencia de metabolitos secundarios en los seis extractos de <i>Maytenus macrocarpa</i> (Ruiz & Pav.) Briq (chuchuhuasi).....	25
Tabla 02: Contenido de flavonoides en dos extractos de <i>Maytenus macrocarpa</i> (Ruiz & Pav.) Briq (chuchuhuasi).....	26

I.INTRODUCCIÓN

La utilización de especies vegetales ha evolucionado paralelamente a lo largo de la historia del desarrollo del hombre y las sociedades, estas siguen siendo una alternativa al autocuidado de su salud, por ello se les considera como plantas medicinales. En el Perú, ha recorrido todas las culturas hasta el día de hoy, ya que son una fuente vital para tratar afecciones primarias con resultados importantes para la salud ⁽¹⁾.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha manifestado su interés e importancia, es así que lo ha considerado como Medicina Tradicional y Complementaria al tratamiento convencional, con utilidad para aliviar síntomas menores, como antipiréticos, analgésicos, antiinflamatorios, secretagogos, coleréticos entre otros, pero solo para aquellas especies que presenten metabolitos avaladas por los estudios científicos ^(2,3).

Una característica relevante de los recursos fitoterapéuticos nacional, es que se encuentran dentro de la diversidad etnobotánica y mucho de ellas aún no cuenta con información etnofarmacológica propia, esto pondría en riesgo el uso correcto y adecuado de las “plantas medicinales”, pues muchos de ellos presentan diversos nombres comunes (homonimia) siendo la misma especie o el mismo nombre común, siendo incluso de diferente especie y género; esto genera la importancia de un adecuado estudio etnobotánico y etnofarmacológico ⁽⁴⁾.

El “chuchuhuasi o chuchuwasi”, sigue siendo utilizado en toda la Amazonía Sudamericana, presenta homonimia en los diversos países y regiones donde se cultiva, tales como el de “vernáculo de chuchuasi” o “chuchuwasha” entre otros, además, existen otras especies del mismo género con el mismo nombre común, chuchuhuasi ⁽⁵⁾.

El *Maytenus macrocarpa* (Ruiz y Pav.) Briq. (*chuchuhuasi*), es un árbol que mide entre 20 y 30m de altura, pertenece a la familia de *Celastraceae*, nativa de la región amazónica del Perú, pero se encuentra distribuido también en los países de Venezuela, Colombia, Ecuador, Brasil y Bolivia entre los 2400 y 2600 msnm; diversos extractos han sido utilizados por presentar actividades biológicas, entre ellas por sus propiedades analgésicas, anticonceptivas, antimicrobianas, entre las principales, aunque se conoce además un efecto antiinflamatorio, antirreumático, diurético, hipotensor; efecto en la motilidad intestinal e investigaciones reportan también una posible acción en el sistema reproductor masculino aunque muchas veces utilizada en sesiones espiritistas “mesadas” debido a su efecto psicotrópico o estimulante. Los extractos de la corteza del tallo, la raíz u hojas del árbol ya sean en decocción, maceración, son las principales formulaciones utilizados ^(6,8).

La investigación en fitoquímica cada vez se ha mejorado y vienen mostrando que los tipos de metabolitos secundarios presentes en la droga vegetal analizado; la etnofarmacológica, en los últimos años, tiene como principal razón el demostrar la eficacia de formulaciones ancestrales y conocer los metabolitos responsables de dicha actividad ⁽⁹⁾.

El Chuchuhuasi presenta concentraciones variables de metabolitos secundarios entre ellos destacan alcaloides, fenoles, esteroides, terpenos, flavonoides entre otros. Los

derivados polifenólicos se encuentran en numerosas especies de plantas y son responsables de la mayor cantidad de efecto terapéutico por poseer mayor actividad farmacológica y su poder por captar radicales libres puede contribuir a poseer efectos farmacológicos en distintas enfermedades⁽¹⁰⁾.

Las investigaciones más recientes se han centrado en los aspectos de salud de los flavonoides para los seres humanos. Se ha demostrado que muchos flavonoides tienen actividad antioxidante, capacidad de captación de radicales libres, prevención de enfermedades coronarias, hepatoprotector, actividades antiinflamatorias y anticancerígenas, mientras que algunos flavonoides exhiben actividades antivirales potenciales. En los sistemas vegetales, los flavonoides ayudan a combatir el estrés oxidativo y actúan como reguladores del crecimiento⁽¹¹⁾.

El conocimiento y cuantificación de los metabolitos de una especie vegetal hace la diferencia entre lo que se conoce como planta y planta medicinal; por ello esta investigación se planteó el siguiente problema ¿Cuáles son los metabolitos secundarios presentes en seis extractos de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (*chuchuhuasi*) y cuál es el porcentaje de flavonoides presente?

II. OBJETIVO GENERAL

- Determinar los metabolitos secundarios presentes en los seis extractos de la corteza *Maytenus macrocarpa*(Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi) y Cuantificar la cantidad de flavonoides totales.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Reconocer cualitativamente mediante el método de obtención de fitoconstituyentes a los metabolitos secundarios presentes en los seis extractos de la corteza de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi).
- Determinar la cantidad de flavonoides totales en extracto fluido al 10% y extracto acuoso de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi).

II. REVISION DE LA LITERATURA

2.1 Antecedentes

Mayorga Ll. 2015. Ecuador. Evaluó el poder analgésico y antiinflamatorio de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (Chuchuhuasi), además determinó que el extracto de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav) Briq.(chuchuhuasi), posee abundante antocianinas debido a la coloración roja intensa, posee esteroles debido a los resultados positivos de la reacción de Lieberman- Burchard. Presencia de alcaloides., no posee antraquinonas; no posee glicósidos cardiotónicos, posee resinas ya que la reacción muestra cantidad moderada, posee azúcares reductores ya que la reacción muestra un escaso precipitado rojo ladrillo; no posee aminos; se confirmó la presencia de flavonoides en el extracto de la corteza y la presencia de alcaloides en el extracto de chuchuhuasi. Concluyó que los alcaloides, saponinas y flavonoides en el extracto de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq., son los probables metabolitos secundarios responsables de las actividades por estar presentes en forma mayoritaria y por sus actividades farmacológicas⁽¹²⁾.

Siccha S, 2018. Perú. Realizó la caracterización físico química del extracto fluido de *Maytenus Laevis* (Chuchuhuasi) y su toxicidad sobre Artemia Salina, observando que el extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis*(Chuchuhuasi) presentó las características físico química correspondiente a la especie de Maytenus, con presencia de metabolitos secundarios de: Alcaloides, flavonoides, Triterpenoides, saponinas, entre otros con menor presencia y en la evaluación de toxicidad aguda sobre Artemia salina está dentro la escala no tóxica⁽¹³⁾ .

Espejo J. et al., 2019. Perú, Evaluó la marcha fitoquímica de la corteza de *Maytenus macrocarpa* “Chuchuhuasi”, resultando positivas pruebas en aminoácidos, taninos, esteroides-triterpenos, flavonoides, cardenolidos y alcaloides, por lo que se comprobó con los usos que tradicionalmente se le atribuyen, tales como antiinflamatorio, analgésico, antihemorrágico, antiviral y estimulador de actividad cardiaca. Advirtiendo que la medicación inadecuada del extracto de la corteza de esta planta podría ocasionar efectos colaterales, como la infertilidad en varones, contrario a las creencias populares ⁽¹⁴⁾.

Aspajo J. 2019. Perú. Analizó la citotoxicidad *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq sobre *Artemia franciscana*” confirmando la presencia de metabolitos secundarios, tales como: alcaloides, fenólicos y saponinas; puede ser la causa de la actividad citotóxica mostrada en el extracto hidroalcohólico de la especie vegetal estudiada. ⁽¹⁵⁾.

Ruiz A MA. 2014. Perú. Realizó el estudio farmacognóstico de las especies *Maytenus macrocarpa*. Donde se determinó las características macromorfológicas de las hojas y las cortezas de ambas especies, encontrando que los parámetros de calidad realizados fueron: determinación de materias extrañas $0,0567\% \pm 0,0404$ en *Maytenus macrocarpa* porcentaje de humedad residual (12,3488% - 12,8518%) equivalente en raíz y corteza; sustancias solubles en agua ($6,7431\% \pm 0,8317$), en alcohol a 50° GL ($16,7963\% \pm 4,4445$); cenizas totales ($1,7915\% \pm 0,1209$); cenizas solubles en agua ($1,2931\% \pm 0,0887$); cenizas insolubles en ácido ($0,4518\% \pm 0,0869$) correspondiente a corteza, los métodos utilizados son los que describen la Norma Ramal para drogas crudas del MINSAP y los resultados se encuentran dentro de los rangos permisibles de ésta. Se preparó el extracto fluido en las hojas, corteza y raíz al cual se le determinó:

cualitativamente los metabolitos secundarios encontrándose la presencia de esteroides (hoja), aminoácidos (raíz), saponinas (raíz, corteza y hoja), fenoles (raíz, corteza y hoja) respectivamente en la especie del *Maytenus macrocarpa*.⁽¹⁶⁾.

2.2. BASES TEÓRICAS DE LA INVESTIGACIÓN DEL PROYECTO:

2.2.1. FITOTERAPIA

En la actualidad se calcula que existen 1 400 especies de plantas utilizadas en la medicina tradicional peruana y de ellas aún no se conocen con exactitud los principios activos que puedan tener la actividad Terapéutica es por ello que la fitoterapia sería la base principal para comenzar la investigación; sobre propiedades botánicas; químicas; farmacológicas ello obliga a continuar con la investigación preclínica y aspectos importantes como eficacia y seguridad, para que dentro de unos años se puedan iniciar las fases clínicas de investigación de las plantas⁽¹⁷⁾.

2.2.2. PLANTAS MEDICINALES

Es toda aquella especie vegetal que puede presentar en sus órganos moléculas activas que mediante síntesis pueden tener una actividad farmacológica. Los medicamentos herbolarios tienen que pasar por un control de calidad para asegurar su inocuidad y demostrar su calidad; eficacia y seguridad mediante estudios clínicos. La OMS y la FAO advierten que dos terceras partes de población en todo el mundo resuelven sus problemas de atención primaria haciendo uso de plantas es por ello que esta demanda tiene que ser controlada y vigilada. En el Perú de acuerdo al decreto supremo N° 016; Reglamento para el registro; control y vigilancia sanitaria de productos farmacéuticos la cual es la autoridad que regulará que se haga un buen uso y comercialización de plantas^(18,19)

2.2.2.1. DROGA VEGETAL

En este caso vendría a ser la materia prima (corteza) la cual es rica en moléculas biológicas activas siempre y cuando no haya sufrido ninguna transformación química ⁽¹⁹⁾.

2.2.2.2. PRINCIPIO ACTIVO

Sustancia pura responsable del efecto farmacológico; una droga vegetal posee diversos principios activos alcaloides, flavonoides triterpenos, entre otros ⁽¹⁷⁾.

2.2.2.3. EXTRACTO VEGETAL

Es un procedimiento que permite extraer de las plantas sustancias que aseguren su actividad protegiendo la muestra y eliminar así algunas moléculas tóxicas mediante extracciones aisladas ^(19,20).

2.2.2.4. EXTRACTO FLUIDO

Los extractos fluidos también llamados extractos líquidos, contienen alcohol como disolvente principal o preservante para preparaciones de drogas vegetales, esta preparación garantiza que cada 1mL. Contenga los constituyentes extraídos de 1 gramo del material vegetal empleada ⁽²⁰⁾.

2.2.2.5. METABOLITOS SECUNDARIOS

Son compuestos bioactivos que se encuentran en las plantas que tienen la capacidad de producir un efecto farmacológico o toxicológicos en los seres humanos o animales se realizan ensayos fitoquímicos para identificarlos tales como las pruebas de: Mayer y Wagner (alcaloides), Baljet (cumarinas), Liebermann-Burchard (triterpenos o esteroides), espuma (saponinas), ninhidrina (aminoácidos libres), Fehling A y

B(carbohidratos reductores), cloruro férrico (fenoles o taninos), Borntrager (quinonas), Shinoda, (flavonoides), resinas y antocianinas⁽²¹⁾.

2.2.2.6. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

Las flavonoides son compuestos polifenólicos que poseen 15 átomos de carbono, con dos anillos aromáticos unidas por un puente de 3 carbonos ⁽²²⁾.

El método espectrofotométrico sirve para cuantificar flavonoides totales y están expresados en quercetina como patrón el cual permite darle linealidad, exactitud al control fitoquímico.

2.2.2.7. ENSAYO COLORIMÉTRICO DE CLORURO DE ALUMINIO

Las reacciones colorimétricas son ampliamente utilizadas en el método espectrofotométrico UV/VIS⁽²³⁾.

El principio básico de este método colorimétrico de cloruro aluminio es que éste forma complejos estables de ácidos con el grupo cetona en C-4 o bien el grupo hidroxilo en C-3 o C-5 de flavonas y flavonoles.

2.3. TAXONOMIA ⁽²⁴⁾.

- DIVISIÓN : Magnoliophyta
- CLASE : Magnoliopsida
- ORDEN : Celastrales
- FAMILIA : Celastraceae
- GENERO : Maytenus
- ESPECIE : *Maytenus macrocarpa* (R. & P.) Briq.
- NOMBRE CIENTIFICO: *Maytenus macrocarpa* (R. & P.) Briq.
- NOMBRE COMUN : Chuchuasi, chuchuhasha, chuchuhuasi, chuchuwasi

2.3.1. DEFINICIÓN

DATOS AMBIENTALES: ⁽²⁵⁾

- CLIMA: Tropical, incremento en la radiación solar; T° oscila entre 22 y 27 °C, lluvias entre 1000 a 3400 mm al año.
- SUELO: Arenosos y arcillosos ricos en materia orgánica.
- CULTIVO: Se siembra en temporada de precipitación pluvial. Para lograr que la semillas se inserten en el campo.
- ESPACIAMIENTO: Área de sembrado 7 x7m y 10 x 10m.
- COSECHA: La extracción de la corteza se realiza a mano sin afectar la fisiología del árbol.

2.3.2. HABITAD

Lo podemos encontrar en la amazonia en zonas en donde no haya inundaciones de preferencia suelos de altura e intensidad lumínica baja. Crece en la amazonia peruana en lugares como Loreto (Tanshiyacu; Panguanae Indiana-rio Amazonas; Huánuco; Pisco; San Martín; Ucayali y Madre de Dios; su corteza para tener un grosor adecuado tarda 30 años es por ello que los bosques están vigilados y para extraer la corteza tenemos que tener un permiso ⁽²⁶⁾.

2.3.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Es un Árbol que llega a medir de 20 a 30m de altura con ramitas verticiladas; ramas foliares con hojas completas de 7 a 15 x 2.5 a 5.5 cm y; con algunos dientes; redondas– lanceoladas; haz brillante 10-20 cm de largo; inflorescencia axilar; flores pequeñas; cáliz rosado y pétalos blanquecinos. Fruto ovalado y semillas oblongas con arilo blanco ⁽²⁷⁾.

2.3.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA.

La corteza contiene metabolitos activos como los flavonoides, que poseen gran poder antioxidante, triterpenoquinonas con actividad antitumoral y microbiana ^(7,13,14). Taninos y quinonas que sustancias más complejas que poseen actividad antiinflamatoria.

2.4. PROPIEDADES TERAPÉUTICAS

A la corteza de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (Chuchuhuasi) se le atribuyen muchos efectos que han sido experimentados entre ellos tenemos el efecto en la: ⁽²⁸⁾

- ✓ Actividad anticonceptiva a dosis de 2000mg/Kg. de peso.
- ✓ Actividad Hipotensora y cronotropa negativa a dosis de 1000 mg/Kg. con el extracto metanólico de chuchuhuasi.
- ✓ Actividad en frecuencia cardiaca; patrones electrocardiográficos; temperatura y frecuencia respiratoria se demostró efecto depresor a 1500 mg/Kg.
- ✓ Actividad en la motilidad intestinal a 3000 mg/Kg. presentó actividad estimulante.
- ✓ Actividad analgésica a dosis de 10000 mg/Kg. presento efecto significativo.
- ✓ Actividad antiinflamatoria en dosis de 1000 mg/Kg.
- ✓ Además, se han aislado de la corteza del árbol dos triterpenos dammaranos (3- oxodammara-20(21); 24-dien-27-oic acid (1) y octa-nor-13-hydroxydammarana-1-en 3,17-diona 2)); quienes poseen actividad antitumoral.

2.4.1. ADVERTENCIAS

En mujeres embarazadas o dando de lactar o en personas que padezcan úlceras gástricas o en niños, por ello se recomienda no administrar vía oral, aunque careciera de efectos adversos.

III.HIPÓTESIS

Hipótesis implícita

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación

Esta investigación fue de tipo descriptivo, observacional con enfoque cualitativo y cuantitativa.

4.2. Población y muestra

Las muestras fueron recolectadas en Madre de Dios-Tambopata, la extracción de la corteza *Maytenus macrocarpa*, se obtuvo sin dañar a los árboles de los bosques de Madre de Dios-Tambopata. De la a corteza de *Maytenus macrocarpa*, se tomó 100g luego se llevó al molino manual en cual se trituro y tamizó hasta obtener un polvo fino homogéneo, para la realización de los extractos.

4.2.2.1. Muestra Vegetal

Corteza de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq (chuchuhuasi).

Criterios de Inclusión.

Cortezas que evidencia conservación de sus características organolépticas originales.

Criterios de exclusión.

Cortezas que evidencia alguna forma de descomposición o humectación durante el traslado.

4.3. Definición y operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición
Variable Independiente Presencia de metabolitos secundarios en la corteza de <i>Maytenus macrocarpa</i> (Ruiz & Pav.) Briq (chuchuhuasi)	Reconocimiento la presencia de los fitoconstituyentes en el extracto de la corteza de <i>Maytenus macrocarpa</i> (Ruiz & Pav.) Briq (chuchuhuasi)	Identificación de metabolitos secundarios mediante la técnica de la marcha fitoquímica.	Reconocimiento mediante un cambio físico o químico de la solución preparada en presencia del reactivo específico.	Rx. gelatina Rx. FeCL3 Rx. shinoda Rx. Nihindrina Rx. Fehling Rx. Rosenheim Rx Mayer Rx. Wagner Rx de espuma	(-) Ausencia (+) Presencia (+++) Abundancia
Variable dependiente Cantidad de flavonoides totales en los extractos de <i>Maytenus macrocarpa</i> (Ruiz & Pav.) Briq (chuchuhuasi)	Porcentaje de flavonoides totales expresado en mg de Quercetina	El contenido total de flavonoides se midió con el ensayo colorimétrico de cloruro de aluminio.	Comparación en base a la curva de calibración establecida por la Quercetina.	mg expresados en Equivalente a Quercetina por cada 100 g de Muestra seca.	Cuantitativa Nominal

4.4. Técnicas e instrumentos

Método: Percolación Continua (USP XXX) ^(29,30)

- Se Desechó la corteza de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (Chuchuhuasi) a 40 °C.
- la corteza de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (Chuchuhuasi) se pulverizó en partículas homogéneas.
- Se Pesó las partículas de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (Chuchuhuasi).
- Se Colocó la corteza pulverizada en un recipiente adecuado.
- Se humectó con alcohol de 50° (doble volumen del peso de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (Chuchuhuasi)., logrando que el líquido se absorba y se dejó en reposar por 15 minutos.
- Se transfirió la droga hidratada al percolador.
- Se añadió el solvente para la extracción procurando que cubra la corteza pulverizada y quede 5 cm por encima (ver anexo 1).
- Se tapó el percolador y se dejó macerar por un tiempo de 24 horas.
- Se abrió la llave del percolador y dejó salir el percolado a un flujo de 3-5 mL/minuto.
- Se obtuvo una primera fracción de 75 % del volumen final del extracto fluido, los que se guardan en un frasco ámbar.
- Se añadió más volumen de solvente extractivo equivalente a 3 veces el peso de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (Chuchuhuasi).

- Se obtuvo el resto del percolado a un flujo de 3-5 mL/minuto y concentró a una temperatura menor a 60 °C hasta obtener el 25 % del volumen final del extracto fluido.
- Se mezcló las dos fracciones (75 % y 25 %) y se dejó reposar en un recipiente cerrado por 20 días a temperatura ambiente (ver anexo 4).
- Se Filtró por papel filtro de velocidad moderada.
- Se envasó y rotuló como extracto fluido de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (Chuchuhuasi) en recipientes de vidrio ámbar.

4.4.3. Determinación de metabolitos secundarios

Se tomó 200 g de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq (chuchuhuasi). Procedente de Madre de Dios-Tambopata

Reactivos y solventes

- Ácido pícrico
- Ácido sulfúrico JT Baker
- Agua ultra pura
- Anhídrido acético JT Baker
- Carbonato de sodio JT Baker
- Cinta de magnesio metálico
- Cloruro de aluminio
- Cloruro hierro (III) Sigma-Aldrich
- Cloruro de mercurio
- Etanol absoluto JT Baker
- Nitrito de sodio
- NaOH Merck

- Nitrato de bismuto pentahidratado
- Quercetina
- Yoduro de potasio

4.3.1. Equipos e instrumentos

- ✓ Micropipetas de 100 μ L, 200 μ L y 1000 μ L Transferpette
- ✓ Estufa Memmert®
- ✓ Balanza analítica AND

4.3.1.1. Preparación de la muestra

Se recolectó la muestra y luego se llevó a una estufa por 48 horas para su secado y estabilización, luego triturar la muestra hasta obtener una muestra homogénea reducida en tamaño, luego se guardó en frascos ámbar sellados herméticamente.

4.3.1.2. Identificación de fitoconstituyentes

Se procedió a la preparación de 6 extractos (2 etanólicos, 2 acuosos por decocción, 2 clorofórmicos) todos al 1% de acuerdo al método de obtención de los extractos, luego se identificó cualitativamente los metabolitos secundarios.

4.3.1.2.3. Reacciones de identificación cualitativas

➤ Ensayos para los extractos acuosos

- **Ensayo del Cloruro férrico**

Se añadió III gotas de la solución de tricloruro férrico al 5% en agua, a una alícuota de extracto, se consideró positivo la reacción si se observa una coloración verde, azul o negro.

- **Ensayo de Shinoda**

Se añadió un trozo pequeño de cinta metálica de magnesio a una alícuota de extracto, luego se vertió de II A III gotas de ácido clorhídrico se dejó reposar hasta la aparición de espuma abundante; coloración Rojo Intenso.

- **Prueba de gelatina**

Para la determinación de taninos se tomó un mililitro de solución acuosa, se le añadió 1 ml de solución de gelatina-sal. Es positivo si se observa precipitado blanco cremoso.

- **Ensayo de Rosenheim**

Permitió identificación de leucoantocianidinas. A un mililitro de solución acuosa, se añadió 0.5 ml de HCl concentrado, fue mezclado y calentado durante 10 minutos luego se enfrió y se trasvaso a otro tubo de ensayo al cual se le agregó 0.4 ml de alcohol amílico se mezcló, luego se dejó reposar hasta la formación de 2 fases.

- **Reacción de Fehling**

Se colocó en un tubo de ensayo 1 mL de muestra y se agregó 1mL de Fehling A y 1 mL de Fehling B, luego se calentó en baño maría por 2 min.

- **Ensayo de ninhidrina**

Se colocó 1 gota de solución, en una tirilla de papel filtro, fue secado y después se añadió 1 gota de reactivo de ninhidrina, luego se calentó en una plancha a 105° C. La aparición de coloraciones violeta, azul o rosada se consideró prueba positiva.

- **Ensayo de Dragendorff**

Se vertió 1 mL de ácido clorhídrico al 1% a una alícuota del extracto, luego se añadió II gotas del reactivo de Dragendorff, se consideró positivo si se aprecia opalescencia (+), turbidez (++) o precipitado (+++).

- **Ensayo de Mayer**

Se vertió 1 mL de ácido clorhídrico al 1% a una alícuota del extracto, luego se añadió II gotas de la solución reactiva de Mayer, se consideró positivo si se aprecia opalescente (+), turbio (++) o precipitado (+++).

- **Ensayo de Wagner**

Se vertió 1 mL de ácido clorhídrico al 1% a una alícuota del extracto, luego se realizó el ensayo añadiendo III gotas del reactivo Wagner, se considera positivo si se aprecia opalescente (+), turbio (++) o precipitado (+++).

- **Ensayo de la espuma**

Permitió identificar saponinas, se tomó 1 mL de extracto y en un tubo se agitó fuertemente, se consideró positivo si la espuma se mantiene 1 minuto.

➤ **Ensayos para los extractos etanólicos**

- **Ensayo del Cloruro férrico**

En esta prueba se trabajó al igual que el ensayo realizado en el extracto acuoso.

- **Ensayo de Shinoda**

En esta prueba se trabajó al igual que el ensayo realizado en el extracto acuoso.

- **Ensayos para extractos clorofórmicos**

- **Ensayo de Bornträger**

Se añadió 1 mL de hidróxido de sodio al 5% a una alícuota de extracto. Se agitó, para mezclar y se dejó en reposo hasta su separación. Se consideró la reacción positiva si en la fase superior alcalina se observa ligeramente un aro rojizo.

- **Ensayo de Liebermann-Burchard**

Se tomó una alícuota del extracto y se le añadió unas gotas de anhídrido acético y 2 gotas de ácido sulfúrico, se consideró positivo con la aparición de un color verde o verde azulado después de unos minutos.

4.4. Determinación del contenido total de flavonoides

Para la determinación del contenido total de flavonoides se prepararon 3 extractos, el primer extracto se obtuvo por maceración por 7 días en etanol-agua 45 % v/v, y el segundo se obtuvo por decocción de 5 minutos y el tercer extracto se prepara por percolación al 10%; se filtraron las muestras y se obtuvo el extracto para análisis. El contenido total de flavonoides se midió con el ensayo colorimétrico de cloruro de aluminio.

4.5. Preparación de la curva

Se prepararon diluciones a partir de una solución madre de quercetina en etanol absoluto a concentración de 1 mg/mL, siendo de 100, 200, 400 y 600 µg/mL. Se vertió 1mL de quercetina en una fiola de 10 mL y luego se añadió 4 ml de agua destilada más 0,3 ml de solución de nitrito de sodio al 5%. Después de 5 minutos, se añadieron 0,3 ml de cloruro de aluminio al 10%. A los 6 minutos, se añadieron 2 ml de hidróxido de sodio 1 M, finalmente se aforaron con agua ultrapura. Se llevaron a leer por triplicado, en un espectrofotómetro a 510 nm. Se preparó la curva con un coeficiente de regresión de $R^2 = 0.9996$ y una ecuación de $y = 0.0007x + 0.0138$.

4.5.1. Lectura de las muestras

Se vertió 1mL de alícuota del extracto en una fiola de 10 mL y luego se añadió 4 ml de agua destilada más 0,3 ml de solución de nitrito de sodio al 5%. Después de 5 minutos, se añadieron 0,3 ml de cloruro de aluminio al 10%. A los 6 minutos, se añadieron 2 ml de hidróxido de sodio 1 M, finalmente se aforaron con agua ultrapura. Se llevaron a leer por triplicado, en un espectrofotómetro a 510 nm, utilizando como blanco agua ultrapura. Los datos de los flavonoides totales, se expresaron en mg de equivalentes de quercetina (Eq.Q) / 100 g de masa seca, se preparó la curva con un coeficiente de regresión de $R^2 = 0.9996$ y una ecuación de $y = 0.0007x + 0.0138$.

4.6. Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	TIPO DE INVESTIGACIÓN Y DISEÑO	VARIABLES	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES
DETERMINACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN LA CORTEZA DE <i>Maytenus macrocarpa</i> (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi) Y CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES	¿Cuáles son los metabolitos secundarios presentes en seis extractos de <i>Maytenus macrocarpa</i> (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi) y cuál es el porcentaje de flavonoides presente?	OBJETIVO GENERAL Determinar los metabolitos secundarios presentes en los seis extractos de la corteza de <i>maytenus macrocarpa</i> (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi) OBJETIVOS ESPECÍFICOS Reconocer cualitativamente mediante el método de obtención de fitoconstituyentes a los metabolitos secundarios presentes en los seis extractos de la corteza de <i>Maytenus macrocarpa</i> (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi). Determinar la cantidad de flavonoides totales en extracto fluido al 10% y extracto acuoso de <i>Maytenus macrocarpa</i> (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi).	Implícita	Descriptivo, observacional; y el nivel fue cuantitativo.	Presencia de metabolitos secundarios en los seis extractos de <i>Maytenus macrocarpa</i> (Ruiz & Pav.) Briq.(chuchuhuasi)	Identificación de metabolitos secundarios mediante el método de obtención de fitoconstituyentes 1%	Rx. gelatina Rx. FeCL3 Rx. shinoda Rx. Nihindrina Rx. Fehling Rx. Rosenheim Rx Mayer Rx. Wagner Rx de espuma
					Cantidad de flavonoides totales en los extractos de <i>Maytenus macrocarpa</i> (Ruiz & Pav.) Briq.(chuchuhuasi)	El contenido total de flavonoides se midió con el ensayo colorimétrico de cloruro de aluminio.	mg expresados en Equivalente a Quercetina por cada 100 g de Muestra seca

4.7 Principios éticos.

En la presente investigación, se trabajó con el código de ética establecido para la investigación la versión 002, aprobada en el 2019 por el consejo universitario, Resolución N° 0973-2019-CU-ULADECH Católica ⁽³¹⁾, En donde se trabajó de manera responsable cumpliendo las buenas prácticas de laboratorio en la manipulación de sustancias químicas y reactivos evitando contaminar el medio ambiente y protegiendo la integridad del investigador.

Para la obtención de la muestra se trató de evitar daños en la especie vegetal manipulándola de tal manera que el legado de esta especie persista para las personas que la utilizan, con la finalidad de determinar los metabolitos presentes y cuantificar flavonoides que posee esta especie.

En cuanto a las referencias de texto se respetó las fuentes bibliográficas respetando su derecho del autor citándolo en nuestro trabajo.

V.RESULTADOS:

5.1. Resultados

Tabla 1: Presencia de metabolitos secundarios en los seis extractos de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq (chuchuhuasi).

Metabolitos	Reacción	Resultados	Observación
Compuestos Fenólicos	Tricloruro férrico	(++)	Coloración verde, azul o negro
Flavonoides	Shinoda	(+++)	Espuma abundante; coloración Rojo Intenso
Taninos	Gelatina	(++)	Precipitado blanco Cremoso
Antocianinas	Rosenhein	(++)	Formación de 2 fases
Compuestos Reductores	Fehling (A, B)	(++)	Precipitado Rojo Cobre
Aminoácidos Libres	Ninhidrina	(-)	No se observa el morado violeta
Alcaloides	Dragendorff	(+)	Turbidez Rojiza-Naranja
	Mayer	(+)	Turbidez blanquecina
	Wagner	(+)	Turbidez marrón
Saponinas	Prueba de agua	(++)	Persistencia de espuma
Quinonas	Bornträger	(+)	Se observa ligeramente un aro rojizo
Esteroides	Lieberman-Burchard	(-)	No se observó el anillo color verde
Triterpenos	Lieberman Burchard	(-)	No se Observa el Cambio de Coloración azul Verdosa

Fuente: Propios del investigador.

(-) Ausencia (+) Presencia (+++) Abundancia

Tabla 2: Contenido de flavonoides en dos extractos de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq (chuchuhuasi).

	mg Eq. Q/100 g MS	$\bar{x} \pm Ds$
EXTRACTO FLUIDO AL 10%	212.2012195	212.255±0.102
	212.1905488	
	212.3719512	
DECOCTO	181.03861	181.059±0.023
	181.0836551	
	181.0566281	

Eq. Q: equivalente de quercetina; MS: muestra seca; (\bar{x}) promedio; (DS)

desviación estándar

Fuente: Propios del investigador,

5.2. ANÁLISIS DE RESULTADOS

La identificación de los metabolitos presentes se determinó mediante un tamizaje fitoquímico el cual tiene como finalidad mostrar un panorama básico de los metabolitos presentes en la corteza *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq (chuchuhuasi) procedente de Madre de Dios-Tambopata, para la identificación cualitativa de los fitoconstituyentes se prepararon 6 extractos (2 etanólicos, 2 acuosos por decocción, 2 clorofórmicos) todos al 1% de acuerdo al método de obtención de los extractos, esto nos permitió la identificación de los diferentes metabolitos según la polaridad de los solventes que están siendo usados (tabla 1).

Los compuestos fenólicos se identificaron mediante la reacción del cloruro férrico, el cual al interactuar con los derivados de catecoles forma una coloración verdosa, y con los derivados del pirogalol evidencia una coloración azul, a identificarse el color azul se dice que es debido a que el pirogalol posee un grupo hidroxilo más, que no se encuentra formando complejos con el fierro trivalente, entonces se aumenta la intensidad de la coloración.

En la identificación de flavonoides se usó el reactivo de Shinoda donde el magnesio metálico al ser oxidado por el ácido clorhídrico concentrado da como producto H_2 , que es eliminado en forma de gas, y el $MgCl_2$ que es el que forma complejos con los flavonoides dando coloraciones características, como este caso formando una coloración rojo intenso. En la identificación de taninos se usó el reactivo de gelatina que forma un precipitado blanquecino debido a la precipitación de las macromoléculas por los taninos presentes. Las antocianinas fueron identificadas con el reactivo de

Rosenheim, en esta reacción el ácido clorhídrico produce una deshidratación del grupo hidroxilo de la posición 3 de la leucoantocianidina y catequina, además se produce la ruptura de anillo heterocíclico.

La deslocalización del electrón produce la coloración rojiza, los azúcares reductores fueron identificados con el ensayo de Fehling, que actúa mediante la reducción de grupo carbonilo de un aldehído que pasa a ácido reduciendo la sal cúprica de cobre (II), en medio alcalino, a óxido de cobre (I) esto formó el precipitado de color rojo.

No se llegó a determinar los aminoácidos libres, sin embargo, se identificaron alcaloides mediante los reactivos Dragendorff que formó precipitado con las sales de alcaloides debido a que el bismuto posee un par de electrones libres donde puede interactuar con dos moléculas de alcaloide. También se identificaron saponinas que presume la existencia de glicosidos de esteroides o de triterpenoides, sin embargo, la prueba de Lieberman-Burchard no identificó algún tipo de esteroides, sin embargo, fueron identificadas Quinonas con la reacción de Bortranger^(32,33).

En estudios reportan que *M. macrocarpa* contiene fenoles y algunas quinonas simples y los metabolitos más estudiados son los triterpenos, varios estudios describen la presencia de triterpenos pentacíclicos friedelano triterpenos, y en menor grado compuestos derivados de quinonmetida, lupano y oleano. Otro grupo muy interesante de compuestos obtenidos de *M. macrocarpa* son los sesquiterpenos de dihidro- β -agarofurano, lo que puede indicar que al momento del ensayo no se logró extraer dichos metabolitos ó que el reactivo no favoreció a la identificación^(34,35).

Para la determinación del contenido total de flavonoides se prepararon 2 extractos, el primer extracto se obtuvo por percolación, obteniendo el extracto fluido y el segundo

por decocción; se filtraron ambas muestras dieron los tratamientos correspondientes para la realización del análisis. El contenido total de flavonoides para los extractos obtenidos fue, en extracto fluido 212.255 ± 0.102 mg Eq. Q/100 g MS y en decocto 181.059 ± 0.023 mg Eq. Q/100 g MS, lo que nos indica que se identificó una cantidad mayor de flavonoides en la extracción por percolación.

Los flavonoides son metabolitos que se encuentran en cantidad considerable en la naturaleza y que aporta muchos beneficios medicinales. Según estudios *M. macrocarpa* posee actividad antimicrobiana, antiviral, antiparasitaria, actividad citotóxica, actividad antiinflamatoria, entre otras, muchas de ellas estudiadas identificándolos metabolitos responsables de estas actividades⁽³⁵⁾.

VI. CONCLUSIONES

- Se determinó los metabolitos secundarios presentes en los seis extractos de la corteza de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi) y se cuantificó la cantidad de flavonoides totales.
- Los metabolitos identificados en los 6 extractos de la corteza de *M. macrocarpa* fueron principalmente los compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, antocianinas, azúcares reductores, alcaloides, saponinas y quinonas.
- La cantidad de flavonoides encontrados fueron 212.255 ± 0.102 mg y 181.059 ± 0.023 mg expresados en Equivalente a Quercetina por cada 100 g de Muestra seca obtenidos del en el extracto fluido al 10% obtenido por percolación de corteza y extracto obtenido por decocción de corteza de *M. macrocarpa*.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- Se recomienda que en todas las tesis de investigación previa a realizar el efecto se realicen estudios de identificación y cuantificación de metabolitos secundarios de *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) para así aislar los componentes que involucren los efectos terapéuticos.
- No se recomienda utilizar este extracto en seres humanos ya que aún se necesitan muchos estudios de comprobación de su efectividad.
- Fomentar el estudio experimental en la línea de investigación con esta corteza de *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) en diferentes efectos terapéuticos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Santibáñez A R., Cabrera M J. Catálogo florístico de plantas medicinales peruanas: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2017. 55 p. Disponible en:
https://bvs.ins.gob.pe/insprint/CENSI/catalogo_floristico_plantas_medicinales.pdf
2. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú 2018. www.paho.org. (Consultado 18-06-2021) disponible en:
<https://iris.paho.org/handle/10665.2/50479>
3. Organización Mundial de la Salud. Medicina tradicional: definiciones. (consultado 18/12/2020)
https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/
4. Rodríguez-Silva, C., Ramírez, J. K., Velásquez-Arévalo, S., Villarreal La Torre V. (2020). Agracejo: Muchas especies, escasa información etnobotánica y etnofarmacológica. *Ethnobotany Research and Applications*. 19. 10.32859/era.19.17.1-12.
5. Acosta LG., Vásquez J., Núñez V., Pino J., Shiga B. Efecto de *Maytenus macrocarpa* "Chuchuhuasi" en el sistema reproductor masculino del ratón (*Mus musculus*). *Rev. Peru biol.* [Internet]. 2013. Dic [citado 2021 mar 18]; 20(3): 223-226. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332013000300004&lng=es.
6. Rengifo S., "La Amazonía: Aporte de la ciencia a su conocimiento y el estado de salud de su población". – IIAP. 2018.
<http://www.iiap.org.pe/cdpublicaciones2011/documentos/pdf/piba/pu/2.pdf>

7. Trópicos Org. *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. 2020. <https://www.tropicos.org/name/6600318>. (Consultado 18-12-2020)
8. Lock Sing OR, *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales* 2016, 3(243-260).
9. Bussmann R., Glenn A., Sharon D., Chait G., Díaz D., et al. *Etnobotánica Investigación y Aplicaciones. La actividad antibacteriana de las plantas medicinales del norte del Perú*. Revisado el 4 de junio [online] Vol 9. 2017. <http://journals.sfu.ca/era/index.php/era/article/view/404/307>
10. Salazar A., Loja B., Rabanal A., Mestanza S., Heringman K., Pinedo D., Alvarado Á., Castañeda B., *Comparación de los usos del chuchuhuasi (Maytenus macrocarpa) entre indígenas Bora-Bora de Loreto y chamanes de Lima (Perú)*. *Revista de Fitoterapia* 2016; 13 (1): 149-157
11. León FAM, Tupia CLL, Turriate MY, et al. *Evaluación de la actividad analgésica central de las hojas de Maytenus macrocarpa (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi)*. *Rev Cubana Plant Med.* 2014;19(4):349-360. Kamtekar S., Keer V., Patil V, (2014) *Estimation of Phenolic content, Flavonoid content, Antioxidant and Alpha amylase Inhibitory Activity of Marketed Polyherbal Formulation*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 4 (09), pp. 061-065, India. DOI: 10.7324/JAPS.2014.40911.
12. Mayorga LL EP., Quiroga J KY. *Evaluación del poder analgésico y antiinflamatorio de Maytenus macrocarpa (Ruiz & Pav.) Briq. (Chuchuhuasi).* [Químico Farmacéutico]. Universidad Central del Ecuador; 2018. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6324>

13. Siccha Sánchez SC. Caracterización físico química del extracto fluido de *Maytenus laevis* (chuchuhuasi) y su toxicidad sobre *Artemia salina* [Químico Farmacéutico]. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2018. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/7932>
14. Espejo R., Fermín H.; Estudio de la Marcha Fitoquímica de *Maytenus macrocarpa* “Chuchuhuasi”. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima 2019. Disponible en: http://www.lamolina.edu.pe/facultad/ciencias/dquimica/pergreenchemistry/?wpfb_dl=3
15. Aspajo J EL. Citotoxicidad in vitro del extracto hidroalcohólico de corteza de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq sobre *Artemia franciscana*. Universidad Nacional De La Amazonía Peruana. Iquitos 2019. Disponible en: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/6449>
16. Ruíz AM., Santillán R. Características Farmacognósticas De Las Especies Amazónicas *Maytenus Macrocarpa* (R. & P.) Briq., Y *Tynanthus Panurensis* (Bur.) Sandw. Universidad Nacional De La Amazonía Peruana. Iquitos - 2017. 2018. Disponible en: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/4760>
17. Kuklinski C. Farmacognosia. 1º Edición. Barcelona: Ediciones Omega; 2003
18. Métodos de extracción. [Citado diciembre 2020]. Disponible en la página de internet. <https://es.scribd.com/document/327041001/PRACTICA-N-1-Metodos-de-Extraccion>
19. Palacios. Metabolitos primarios y secundarios. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote Escuela de Farmacia y Bioquímica. [Citado diciembre 2020]. Disponible en:

[http://files.selvafarma.webnode.es/200000192-6def76ee8d/TEMA_04 .pdf](http://files.selvafarma.webnode.es/200000192-6def76ee8d/TEMA_04.pdf)

20. Métodos de extracción. Farmacognosia. Plantas Medicinales. [Citado diciembre 2020]. Disponible en:

<https://www.plantas-medicinal-farmacognosiacom/temas/métodos-de-xtracción/>.

21. Toro D; Martínez Y; Rodríguez R. Análisis preliminar de los metabolitos secundarios de polvos mixtos de hojas de plantas medicinales. SCIELO[Internet].2017[Consultado el 08 de Dic 2021];9(14). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962017000100005

22. Vélez M. Uso de Metabolitos Secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis. SCIELO[Internet].2019[Consultado el 08 de Dic 2021];5(19). Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/939/93935728004.pdf>

23. Sailema M, Extracción simultánea de polifenoles totales y flavonoides totales en hojas de *Fragaria*. [Internet].2019[Consultado el 08 de Dic 2021];5(19). Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29997/1/BQ%20190.pdf>

24. Bussmann RW, Sharon D. Plantas medicinales de los andes y la amazonia-la flora mágica y medicinal del norte del Perú. 1° Ed. Graficart SRL. Perú.2018

25. Ganoza M. Fundamentación Química de las Reacciones de Coloración y Precipitación en la Identificación de Metabolitos Secundarios de Plantas Medicinales. [Tesis para título]. [Trujillo]: Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 2017. 49 p.

26. Ruíz MA, Santillán N. Características farmacognósticas de las especies amazónicas *Maytenus macrocarpa* (R. & P.) Briq., y *Tynanthus panurensis* (Bur.) Sandw. Iquitos - 2017 / Pharmacognostic characteristics of the Amazonian species *Maytenus macrocarpa* (R. & P.) Briq., And *Tynanthus panurensis* (Bur.) Sandw.

Iquitos – 2017. [Tesis para título]. [Iquitos]: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2018. 97 p.

27. Ruíz SG, Venegas EA, Chávez MH, Eustaquio CL. Identificación preliminar de los metabolitos secundarios de los extractos acuosos y etanólicos del fruto y hojas de *Morinda citrifolia* L. “noni” y cuantificación espectrofotométrica de los flavonoides totales. UCV - Scientia 2(2), 2019.

28. Metodología de superficie de respuesta para la optimización del contenido total de polifenoles y la actividad antioxidante de extractos de corteza de *Maytenus macrocarpa* mediante extracción asistida por ultrasonido; disponible en:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00226-018-1034-x#citeas>

29. Código de Ética para la Investigación, Versión 002, Chimbote Perú, 16 de agosto 2019. <https://campus.uladech.edu.pe/mod/folder/view.php?id=1794795>

30. Hurtado A. Características de los trabajos publicados sobre las propiedades de las plantas. Facultad de Medicina Universidad Peruana Cayetano Heredia. Rev Peru Med Exp Salud Pública. Lima. 2019; 26(3): 314-23.

<http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S172646342010000100023&script=sarttext>

31. Salazar G., Milla F., Morales G., Velarde B., Villanueva E., et al. Evaluación de la actividad hipotensora del *Maytenus Krukovii* (Chuchuhuasi) en rata consciente. Revista Horizonte Médico. Vol. 8, N° 2, 2018.

32. Kember M., Rengifo E. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana. (AECI) 2° Ed. pp.72 2016. Lima

<http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/L017.pdf>

33. Villavicencio VO. Criterios De Aplicación Clínica De Las Plantas Medicinales. Sociedad peruana de medicina biológica (SPEMEB). Programa Nacional De Medicina Complementaria Del Seguro Social_ESSALUD.2017.
<http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/cap8.pdf>
34. Malaník M, Tremel J, Rjašková V, Tížková K, Kaucká P, Kokoška L, Šmejkal K. *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq.: Phytochemistry and Pharmacological Activity. *Molecules*, 2019;24(12):2288. Doi: 10.3390/molecules24122288
35. Huaccho R., Cavero A., Quezada R., Lara P., Lluen E. Efectos sobre la temperatura, frecuencia respiratoria, frecuencia cardiaca y electrocardiograma de *Maytenus macrocarpa*. (chuchuhuasi). [online]. *Rev cubana Plant Med* vol.17 No.3. Cuba. 2020.

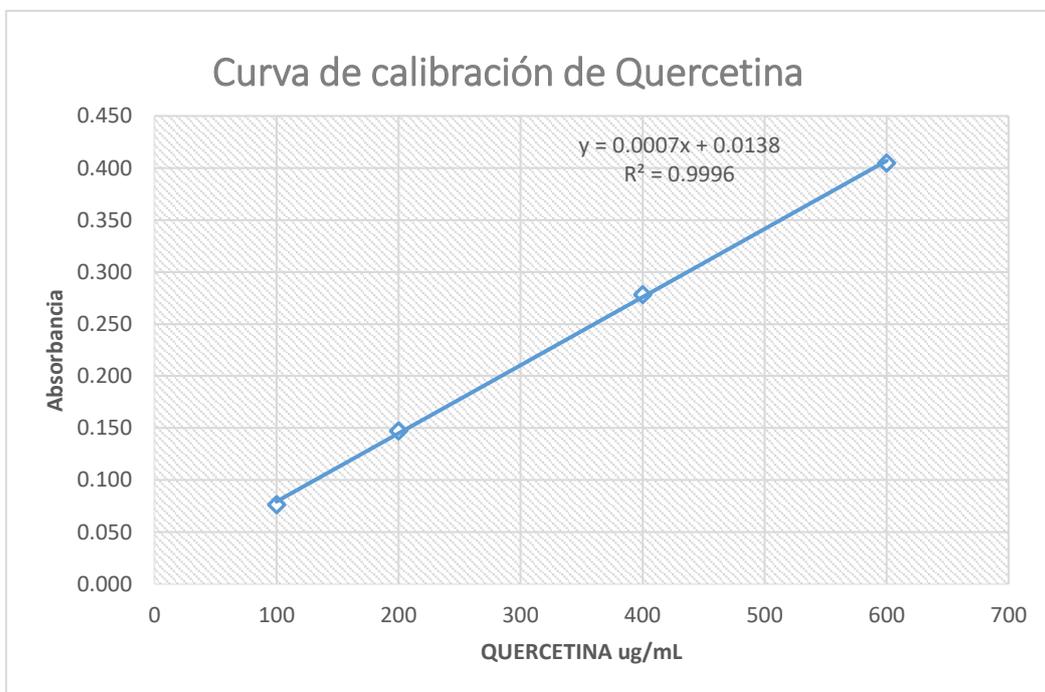
ANEXOS:

ANEXO 01:

CURVA DE CALIBRACION DE QUERCETINA

Quercetina (ug/mL)	Absorbancia			\bar{x}
100	0.076	0.077	0.076	0.076
200	0.146	0.147	0.149	0.147
400	0.279	0.277	0.279	0.278
600	0.400	0.399	0.416	0.405

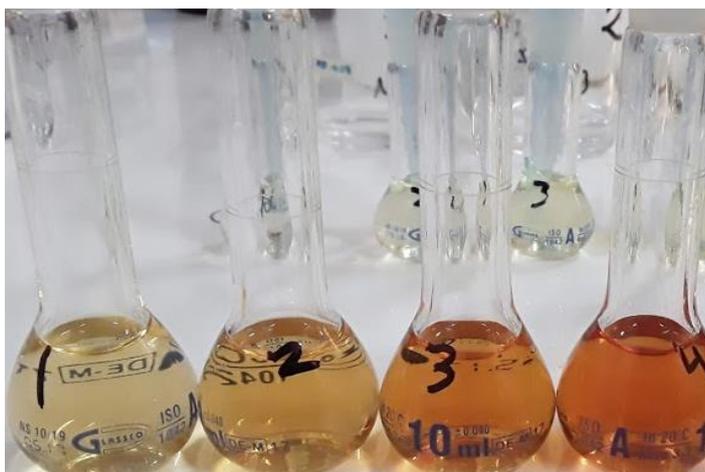
Fuente: Propios del investigador,



Fuente: Propios del investigador,

ANEXO 02:

CURVA DE CALIBRACION DE QUERCETINA



Curva de calibración de quercetina



Muestras del extracto fluido al 10%

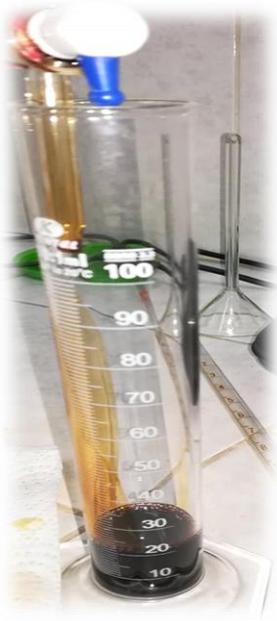


Muestras de decocto

ANEXO N° 03.

Método de percolación de extracto fluido de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq
(chuchuhuasi).

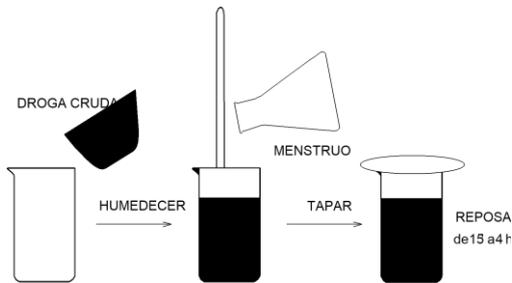




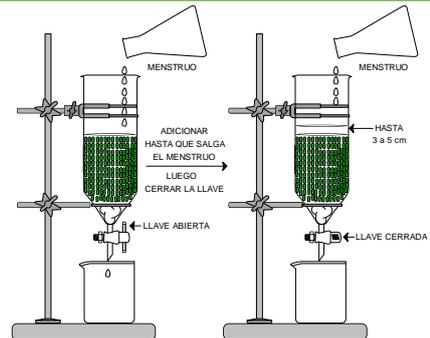
ANEXO N° 04.

Método de percolación de extracto fluido de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq
(chuchuhuasi) ⁽³⁰⁾

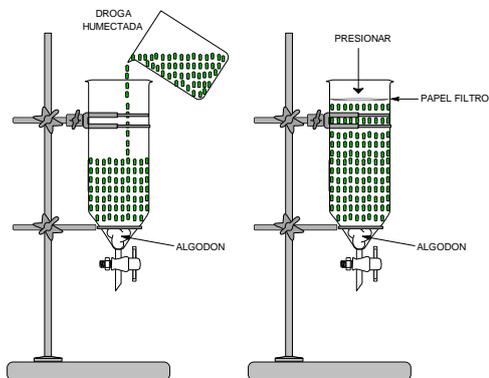
PASO 1: Colocando la droga



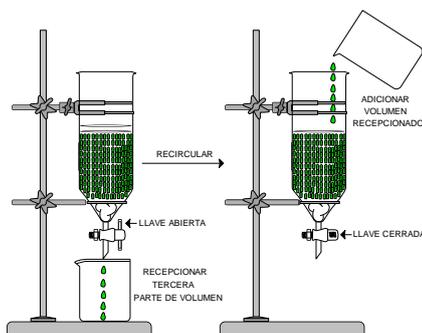
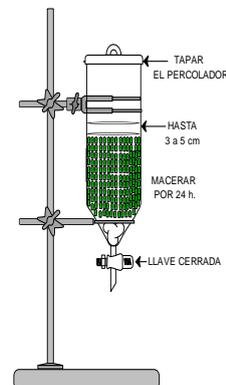
PASO 2: Colocación del menstroo (solvente extractivo)



PASO 3: Recirculación del menstroo.



PASO 4: Tapado del percolador y dejar macerar por 24 horas.

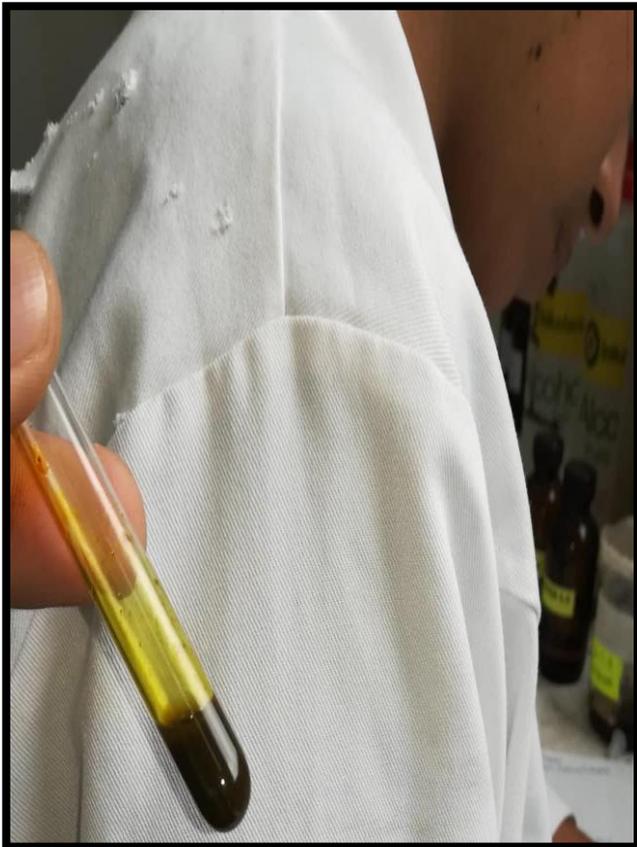


ANEXO N°05 : IDENTIFICACIÓN DE FITOCONSTITUYENTES

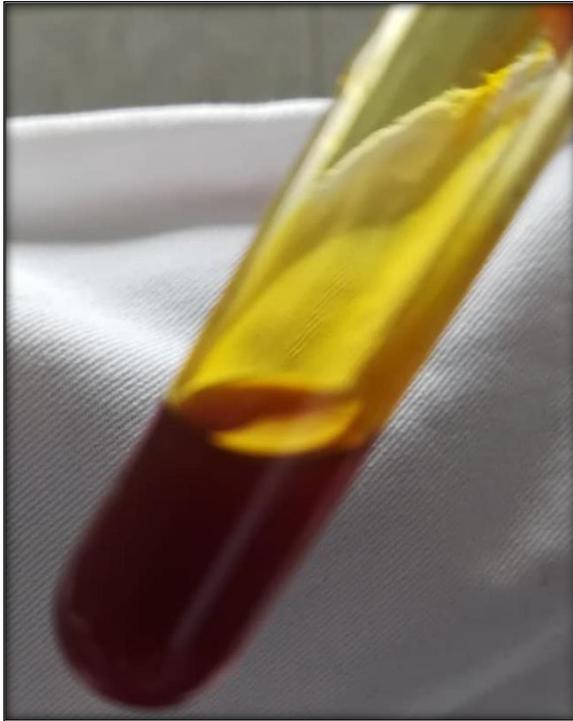
Laboratorio de QUIMICA 01 ULADECH FILIAL TRUJILLO

ENSAYOS PARA LOS EXTRACTOS ACUOSOS

- Ensayo del Cloruro férrico



- Ensayo de Shinoda



- Prueba de gelatina



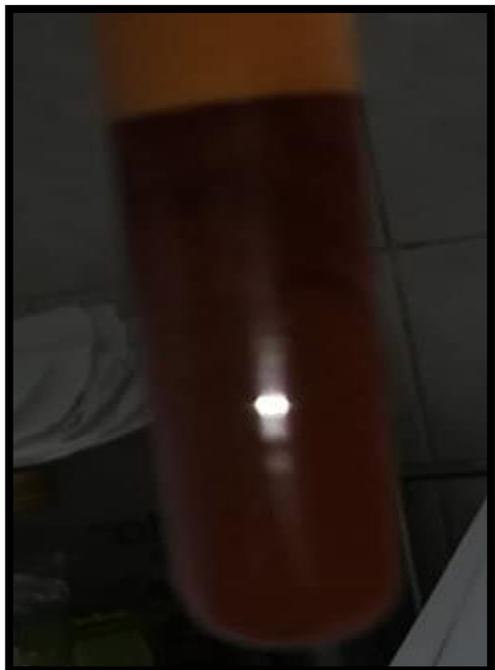
- Ensayo de Rosenheim



- Ensayo de ninhidrina



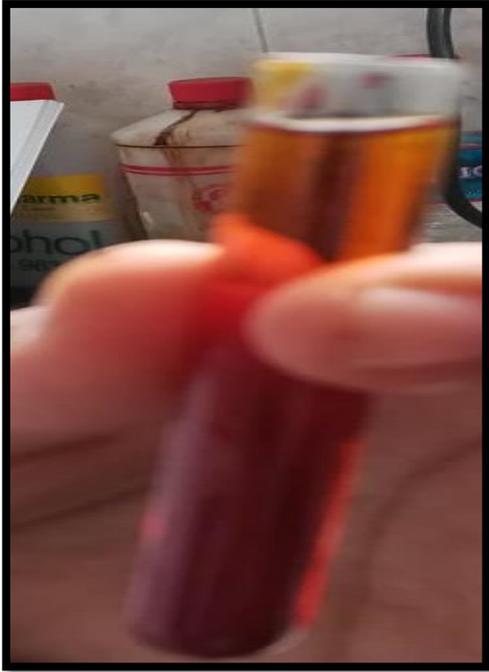
- Ensayo de Dragendorff



- Ensayo de Mayer



- Ensayo de Wagner



- Ensayo de la espuma



ENSAYOS PARA EXTRACTOS CLOROFÓRMICOS

- Ensayo de Bornträger



- Ensayo de Liebermann-Burchard

