



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES DE  
CHIMBOTE

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

CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICA DEL  
EXTRACTO FLUIDO DE *Maytenus laevis*  
(CHUCHUHUASI) Y SU TOXICIDAD SOBRE *Artemia*  
*salina*.

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORA:

Bch. SILVIA CRISTINA SICCHA SÁNCHEZ

ASESOR:

Mgtr. CÉSAR ALFREDO LEAL VERA

TRUJILLO- PERÚ

2018

ii

## JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega.

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla.

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau.

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera.

Docente Tutor Investigador

## **AGRADECIMIENTO**

Al culminar esta investigación queremos agradecer, en primer lugar, a Dios quien nos de fortaleza para seguir este camino. A mis padres que están en los cielos, por darme mucho cariño y amor.

**Agradecimientos muy especiales.** A todos los profesionales que me apoyaron en la trayectoria de esta investigación: Dr. Fernández Sosaya coordinador del centro de Medicina Complementaria EsSalud red asistencial La Libertad, Mgtr. Dalila Aliaga tutora de internado, Dr. Químico Armando Cuellar docente de la Universidad de Cuba, Mgtr. Edmundo profesor de la UNT, Dr. Lombardi decano de UPAO, Mgtr. César Leal Vera docente tutor investigador, Mgtr. Alfredo Bernardo Claudio Delgado coordinador escuela de Farmacia y Bioquímica ULADECH.

Gracias maestros de ULADECH por ser un gran ejemplo para mí.

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación fue de tipo descriptivo con enfoque cualitativo y cuantitativo. El objetivo fue determinar las características físicas químicas del extracto fluido de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) y su toxicidad aguda sobre *Artemia salina*. Los métodos que se utilizaron fueron: Método sensorial para determinar características organolépticas, método gravimétrico para sólidos solubles, método de picnómetro para densidad relativa, método potenciómetro para pH y volumétrico para grado alcohólico, se realizó una marcha fitoquímica para identificar los metabolitos secundarios y el método de micropocillo para la evaluación de toxicidad aguda.

Los resultados fueron: Extracto fluido de consistencia densa, color rojo marrón oscuro, olor a madera sabor astringente, con pH de 5 y grado alcohólico de 20°, el valor sólido solubles 163mg/ml y densidad relativa 1.6g/ml a 25°C. Los metabolitos secundarios presentes fueron: Alcaloides, flavonoides, triterpenoides, taninos, saponinas, entre otros con menor presencia. En la evaluación de toxicidad aguda se determinó la CL50, obteniendo como valor de 0.57mg./ Lo que nos indica que el extracto fluido no es tóxico.

Se concluye 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.

Palabras claves: *Maytenus laevis*, características físico químicas y toxicidad aguda

## ABSTRACT

The present research work was of a descriptive type with a qualitative and quantitative approach. The objective was to determine the chemical physical characteristics of the *Maytenus laevis* fluidextract (Chuchuhuasi) and its acute toxicity on *Artemia salina*. The methods that were used were sensory method to determine organoleptic characteristics, gravimetric method for soluble solids, pycnometer method for relative density, potentiometer method for pH and volumetric for alcoholic degree, a phytochemical march was carried out to identify the secondary metabolites and the method of microwell for the evaluation of acute toxicity.

The results were: Fluid extract of dense consistency, dark brown red color, smell of astringent taste wood, with a pH of 5 and alcoholic degree of 20 °, soluble solid value 163mg / ml and relative density 1.6g / ml at 25 ° C . The secondary metabolites present were: alkaloids, flavonoids, triterpenoids, tannins, saponins, among others with less presence. In the evaluation of acute toxicity the LC50 was determined, obtaining as a value of 0.57mg./ What indicates that the fluid extract is not toxic.

It is concluded that the fluidextract of the bark of *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) presented the physical and chemical characteristics corresponding to the Maytenus species, with the presence of secondary metabolites of: alkaloids, flavonoids, triterpenoids, saponins, among others with less presence and in the acute toxicity evaluation on *Artemia salina* is within the non-toxic scale.

Key words: *Maytenus laevis*, physicochemical characteristics and acute toxicity

## CONTENIDO

AGRADECIMIENTO .....	iv
RESUMEN .....	v
ABSTRACT.....	vi
CONTENIDO .....	vii
ÍNDICE DE TABLAS .....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
I. INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVOS .....	4
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	5
2.1. Antecedentes .....	5
2.2. Bases teóricas.....	7
III. HIPÓTESIS.....	18
IV. METODOLOGÍA .....	19
4.1. Diseño de la investigación.....	19
4.2. Población y muestra .....	19
4.3 . Definición y operacionalización de las variables.....	21
4.4 Técnica e instrumentos .....	23
4.5. Plan de análisis.....	33

4.6. Matriz de consistencia.....	34
4.7. Principios éticos.....	36
V. RESULTADOS.....	37
5.1 Resultados .....	37
5.2. Análisis de resultados.....	41
VI. CONCLUSIONES.....	46
Aspectos complementarios .....	47
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	48
VIII. ANEXOS.....	57

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características organolépticas del extracto fluido de la corteza de <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhuasi) .....	37
Tabla 2. Características físicas del extracto fluido de la corteza de <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhuasi).....	37
Tabla 3. Evaluación de metabolitos secundarios presentes en el extracto fluido de <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhuasi).....	38
Tabla 4. Proceso del desarrollo de las extracciones sucesivas con 5g. de corteza de <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhuasi).....	57
Tabla 5. Resultados de extracciones sucesivas de los extractos alcohólicos, hidroalcoholicos y acuosos con 5g, de corteza de <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhuasi).....	57
Tabla 6. Interpretación de significancia y comparación.....	58
Tabla 7. Evaluación fitoquímica de metabolitos secundarios en los extractos alcohólicos, hidroalcoholicos y acuosos de la corteza de <i>Maytenus laevis</i> . (Chuchuhuasi).....	59
Tabla 8. Resultado de la identificación fitoquímica cualitativa de los extractos alcohólicos hidroalcoholico y acuosos de la corteza de <i>Maytenus laevis</i> . (Chuchuhuasi).....	60
Tabla 9. Proceso de extracción del extracto fluido de la corteza <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhuasi).....	62
Tabla 10. Datos del ensayo de toxicidad del extracto fluido de la corteza de <i>Maytenus Laevis</i> (Chuchuhuasi), sobre larvas <i>Artemia salina</i> .....	64
Tabla 11. Evaluación de toxicidad aguda del extracto fluido de <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhuasi) sobre <i>Artemia salina</i> , según el análisis de varianza (ANOVA).....	65

Tabla 12. Comparaciones múltiples de las concentraciones (ANÁLISIS POST – ANOVA).....	66
Tabla 13. Agrupación de los niveles de concentración mediante Tukey y Duncan.....	69
Tabla 14. Resultados y cálculos de la CL50 de las muestras frente a las larvas de <i>Artemia salina</i> .....	70
Tabla. 15 Determinación de la ecuación para cálculo de la CL50.....	71
Tabla 16. Determinación de la toxicidad aguda del dicromato de potasio en larvas de <i>Artemia salina</i> .....	72
Tabla 17. Clasificación de toxicidades basada en unidades de toxicidad.....	73

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Evaluación de toxicidad aguda del extracto fluido de <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhuasi), sobre <i>Artemia salina</i> .....	39
Gráfico 2. E valuación de toxicidad aguda del control positivo con dilución 0.2ml de dicromato de potasio (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ) y control negativo con dilución 2ml de sal marina, sobre <i>Artemia salinas</i> .....	39
Gráfico 3 Determinación de la curva de toxicidad aguda para establecer la CL50 del extracto fluido de <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhuasi) sobre <i>Artemia salina</i> .....	40

## **I. INTRODUCCIÓN**

Las plantas con propiedades medicinales fueron las primeras medicinas utilizadas en forma empírica para curar las enfermedades que padecía el ser humano, así vinieron diferenciando las que curaba y las que eran tóxicas. Este conocimiento fue transmitiéndose oralmente entre las generaciones. Cuando apareció el papiro se comenzó obtener mayor información mediante la escritura convirtiéndose en patrimonio de la sociedad, por lo cual ha venido atravesando la humanidad<sup>(1)</sup>.

Las plantas medicinales son de gran importancia para la investigación, porque sirven de base para la síntesis de los medicamentos y modelos farmacológicos, para su desarrollo. Por consiguiente, la reglamentación de la explotación y la exportación, junto con la cooperación y la coordinación internacionales, son esenciales para su conservación a fin de asegurar su disponibilidad para el futuro<sup>(2)</sup>.

Los medicamentos herbarios tienen características especiales que los distinguen de los medicamentos químicos. Una sola planta puede contener muchos constituyentes naturales. Además, la experiencia señala que el uso de sus extractos de plantas medicinales enteras tiene beneficios reales a largo plazo, ya que los componentes de las mismas actúan conjuntamente unos con otros. Sin embargo, hay muy poca investigación sobre ellas, solo una cantidad relativamente pequeña de especies de plantas se ha venido estudiando para las posibles aplicaciones médicas<sup>(2)</sup>.

La política de la Organización Mundial de la Salud con respecto a la medicina tradicional que se presentó en el informe de la Directora General sobre la Medicina Tradicional, en el que decía que la OMS colaboró con sus Estados Miembros en el examen de las políticas nacionales, la legislación y las decisiones sobre la naturaleza y el grado de uso de la medicina tradicional en sus sistemas de salud. Siendo uno de sus

objetivos principales del programa de Medicina Tradicional, facilitar la integración en los sistemas nacionales de atención de salud de la medicina tradicional, promoviendo el uso racional mediante la formulación de pautas técnicas y normas internacionales en el campo de los medicamentos herbarios <sup>(2)</sup>.

En respuesta a la solicitud. El programa de Medicina Tradicional de la OMS decidió preparar un documento técnico, titulado "Monografías" de la OMS sobre plantas medicinales. Ésta comprende dos partes: La primera parte consta de resúmenes de las características botánicas y sus principales componentes químicos activos, así como su control de calidad de cada planta; La segunda parte, consta de resúmenes de las aplicaciones clínicas, la farmacología, la posología, las contraindicaciones y precauciones posibles y las reacciones adversas potenciales. La Farmacopea Europea, ESCOP (European Scientific Cooperative for Phytotherapy), la OMS "Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials" contribuyeron de forma decisiva a dicho desarrollo <sup>(2,3,4)</sup>.

Para el análisis Químico de plantas, consiste en la identificación de la estructura y composición química de alguna parte de ella. Actualmente se considera como una referencia indispensable para determinar la calidad para el empleo de las mismas, especialmente cuando van a ser utilizados en medicamentos Fito terapéuticos o especialidades farmacéuticas, convirtiéndose en una herramienta muy útil para determinar, sustancias tóxicas, residuos de plaguicidas, y derivados de procesos de contaminación atmosférica. Además, resulta necesaria la evaluación científica para poder ofrecer ayuda conociendo la composición y las características físicas químicas de un producto terminado <sup>(5,6)</sup>.

Por otra parte, tenemos los procedimientos de extracción que juega un papel importante que aseguran y proveen productos herbales de calidad a los consumidores de todo el mundo. Si se conoce la composición química de su naturaleza (información químico taxonómica). Estos métodos de extracción deben estar dirigidos a la obtención de componentes con la mayor pureza posible. Cuando la componente química es desconocida, el proceso de extracción puede estar basado en el uso de las plantas que tiene en medicina popular para esto, se lleva a cabo varias extracciones con solventes cuya polaridad se va incrementando <sup>(7,8)</sup>.

También tenemos a la percolación que es el método oficial de extracción, descrito en la Farmacopea Americana USP XXX. Este método consiste en que el menstruo (generalmente alcohólico o mezclas hidroalcoholicos) atraviese la masa de la droga humectada siempre en un solo sentido, alcanzando mayores concentraciones porque el disolvente se renueva de modo continuo, corre de arriba abajo a través de la capa de droga sin aplicar presión. Los extractos son presentaciones de consistencia sólida, líquida derivado del material vegetal desecado, se obtienen al evaporar parcial o totalmente el disolvente en líquidos extractivos, se clasifican en: Extractos fluidos, secos, blandos y crio extractos <sup>(9)</sup>.

Los extractos fluidos son extracciones de drogas que, con la concentración prescrita de etanol, están preparados de forma que una parte de droga corresponde a una parte del extracto fluido (1mg/1ml) teniendo en cuenta que 85 partes de droga seca corresponde a 100 partes de planta fresca. Por lo general los extractos fluidos se obtienen por percolación <sup>(8)</sup>. Mientras que, los análisis fitoquímicos mediante las reacciones de precipitación y coloración permiten determinar los principales metabolitos presentes en las extracciones de plantas medicinales <sup>(10)</sup>.

En un extracto hidroalcohólicos de corteza de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi), se han evaluado mediante el análisis Fitoquímico de sus metabolitos, entre los que se encontraron son: Taninos aminoácidos, triterpenoides, flavonoides, y alcaloides <sup>(11)</sup>. En la presente investigación, se plantea el siguiente problema. ¿Cuáles son las características físicas químicas del extracto fluido *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) y su toxicidad sobre *Artemia salina*?

### **OBJETIVOS GENERALES**

- Determinar las características físico química del extracto fluido de la corteza *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) y su toxicidad sobre *Artemia salina*.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar las características físicas del extracto fluido de la corteza *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi).
- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi).
- Evaluar la toxicidad aguda del extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) sobre *Artemia salina*.

## II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

### 2.1 Antecedentes

La medicina tradicional, es una de las expresiones más importantes de la memoria ancestral de los pueblos amazónicos que hace uso, entre otras prácticas de un gran número de especies vegetales para curar sus enfermedades y síndromes. La flora amazónica peruana constituye una de las mayores reservas de recursos fitoterapéuticos. El conocimiento de las propiedades medicinales de las plantas está basado en la observación, la experiencia y el conocimiento profundo del entorno<sup>(12)</sup>.

Dentro de estas especies tenemos a la planta medicinal Chuchuhuasi cuya planta tiene muchos antecedentes de su uso y valor terapéutico que han venido contribuyendo en la salud de los seres humanos<sup>(12)</sup>. A continuación, se presentan algunos antecedentes de investigaciones de ensayos toxicológicos.

Quiroga en el año 2015 en Quito, Ecuador realizó una evaluación de la toxicidad del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz&Pav.) Briq, en ratones. Al administrar la concentración del extracto a 1000mg/Kg se observaron a los ratones con ataxia y dos de ellos murieron, luego administró la concentración del extracto a 2000 mg/Kg se observaron a todos los ratones que murieron. También identificó los metabolitos secundarios como: Alcaloides, flavonoides, saponinas, triterpenoides entre otros<sup>(13)</sup>.

En otro estudio Salazar, en el año 2013 en Quito, Ecuador realizó un estudio experimental de la valoración de la toxicidad del extracto hidroalcohólico de *Maytenus laevis* Reissek. (Chuchuhuasi). Con ratones albinos. El tratamiento de los animales fue con las siguientes dosis (5, 50, 500, 2000 y 5000 mg/kg) se administró hasta ver morir al animal. Concluyendo el estudio de la dosis inicial de 2000 mg/kg es una dosis

letal, la dosis eficaz para la actividad analgésica es de 100mg/kg. En éste mismo estudio identificó los siguientes metabolitos: Taninos, alcaloides, flavonoides y esteroides en forma mayoritaria<sup>(14)</sup>.

Mientras que, Acosta et al, en el año 2013 en la Universidad Mayor de San Marcos Lima, realizó un estudio experimental del efecto de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi) en el sistema reproductor masculino del ratón (*Mus musculus*) administraron durante 7 días. Los ratones fueron machos maduros de la cepa C57BL divididos en 2 grupos (n=10), Grupo Control (C): NaCl 0.9% y el grupo tratamiento con el extracto acuoso de Chuchuhuasi, se evaluaron la concentración, movilidad y morfología espermática. Concluyendo que el extracto acuoso presentó un efecto negativo en el sistema reproductivo masculino de ratones. Tampoco hubo significativas en el peso corporal de los ratones sugiriendo que el extracto acuoso no causaría toxicidad sistémica en el individuo a la concentración suministrada<sup>(15)</sup>.

Egoavil et al, en el año 2013 en la Universidad de la Molina en Lima ha evaluado en una marcha Fitoquímica del extracto de la corteza de *Maytenus macrocarpa* “Chuchuhuasi” en la cual tuvo como resultado positivo en los siguientes metabolitos: En aminoácidos, taninos, esteroides triterpenos, flavonoides, cardenólidos y alcaloides, por lo que verificó sus usos que tradicionalmente se le atribuyen, tales como analgésico y antiinflamatorio<sup>(11)</sup>.

Apaclla en el año en el año 2015, Iquitos Perú realizó una evaluación de Metales presentes en la raíz, corteza y hojas de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi) de uso etnomedicinal en la Región de Loreto. Se determinó la concentración del analito en el equipo de absorción atómica Spectra AvarianAA 240, con gas de arrastre: Aire/ Acetileno, señal lámpara de cátodo hueco, la detección diferente para cada elemento. Con

una temperatura de ionización 3000°C, con inyección aspiración directa, horno de incineración (Mufla). Para observar si existen metales pesados <sup>(16)</sup>.

Mendocilla et al., en el año 2017 en el seguro de EsSalud en Lima, ha evaluado el efecto de seguridad y eficacia de *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) diferentes dosis, en pacientes con osteoartrosis leve-moderada en un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, la dosis fueron: I (40 mg/kg/día de M. Krukovii); II (80 mg/kg/día de M. Krukovii) y III (15 g/día de *Daucus carota* como placebo). Como dolor referido fue estadísticamente distinto entre ambos grupos de estudio en comparación con placebo (p=0,001; diferencia de medias: 1,3±0,89 en ambos casos). El recorrido articular de rodilla fue diferente entre el grupo I y el grupo III (p=0,004). Concluyeron que el uso de *Maytenus. Krukovii*, a dosis de 40 y 80 mg/kg pc. Por día mostró disminuir el dolor referido y mejorar la capacidad funcional en los pacientes <sup>(17)</sup>.

La OMS a través de la agencia especializada de las Naciones Unidas ha participado como autoridad de dirección y coordinación asuntos internacionales de salud y salud pública ha establecido los materiales básicos para utilizar en los países desarrollados y en desarrollo como remedios caseros, productos farmacéuticos sin receta y materias primas. Ha hecho un hincapié en la necesidad de garantizar la calidad de los productos de plantas medicinales utilizando, técnicas modernas de control y aplicación de estándares adecuados <sup>(8)</sup>.

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. Fundamento del proceso de extracción**

Las extracciones denominadas popularmente como preparaciones galénicas en honor a galeno, en la cual dio grandes aportes en su época al desarrollo de la farmacia y la medicina, y generalmente las extracciones se obtienen como decocciones, infusiones

extractos fluidos, densos y secos <sup>(18,19)</sup>. A partir de estos procedimientos han venido perfeccionado técnicas extractivas que permitan obtener las sustancias activas en forma pura para una elaboración más sofisticada de medicamentos en forma de tabletas, líquidos, ungüentos, capsulas etc., Pero no han logrado destituir las preparaciones originales de las cuales han tomado mayor importancia en la actualidad, por su inocuidad y menores reacciones adversas <sup>(18,19)</sup>.

Para lograr una concentración adecuada de los principios activos que contienen las plantas medicinales y que su acción sea más efectiva es necesario realizar diversos procedimientos, mediante los cuales sean extraídos dichos metabolitos con solventes adecuados y que sean seleccionados de acuerdo a la solubilidad y la estabilidad que poseen las sustancias extractivas <sup>(18,19)</sup>.

### **2.2.2. Fundamento teórico botánico**

Fundamento botánico: **CHUCHUHUAS** (*Maytenus laevis*)

Nombre Científico: *Maytenus Macrocarpa* (R. & P.) Briq.

**Familia:** Celastraceae (Dicotiledónea)

#### **Nombres Comunes**

- Chuchuhuasi
- Chuchuhuasha
- Chuchuguaza
- Chuchuhuasca
- Chuchuguaso <sup>(12)</sup>.

#### **Sinonimia**

- *Maytenus laevis*.

- *Maytenus ebenifolia*
- *Maytenus terapotensis*
- *Maytenus Multiflora (R. &P.)*
- *Loese Celastrus macrocarpus R.&P*
- *Haenkea macrocarpa (R&P) Steudel*
- *Maytenus chuchusha*
- *Maytenus Krukoviï* <sup>(13)</sup>

### **Descripción botánica**

La corteza de Chuchuhuasi es un árbol grande con ramas verticiladas, ramitas foliares anguladas. **Hojas** enteras, coriáceas; oblongo-lanceoladas o elípticas, acuminadas, emarginadas; lustrosas en el haz; 10-20 cm de largo. Inflorescencia axilar. Flores diminutas, cáliz colorido, pétalos obovados, blanquecinos. Fruto cápsula ovoide.

**Semillas** oblongas con arilo blanco <sup>(12)</sup>

**Usos: Raíz.** Es utilizado para el reumatismo, se prepara en maceración alcohólica, agregando miel de abeja a la hora de consumir una copita en ayunas durante un mes.

**Corteza.** También se utiliza para reumatismo, se prepara por decocción. La dosis diaria se toma una copita en ayunas; Para resfríos y bronquitis se raspan 200 g de corteza y se hierven en dos litros de agua durante una hora, colocar en una botella agregando un cuarto de litro de aguardiente, dejando macerar por 10 días. Este preparado tomar una cucharada en las mañanas por 15 días <sup>(12)</sup>.

Antidiarreico la corteza troceada por decocción, tomar una cucharada cada tres horas para hemorroides preparar en decocción la corteza y realizar baños de asiento.

Afecciones de las mamas: Una taza de la corteza, rallada o en trozos, preparar en

decocción, aplicar en los pezones con grietas <sup>(12)</sup>.

### **Componentes químicos**

Dentro su composición química tenemos: Los alcaloides sesquiterpénicos y espermidínicos, ácidos fijos débiles, auronas, catequinas, chalconas, cumarinas, fenoles simples, flavonoides, quinonas, saponinas y triterpenos <sup>(14)</sup>.

**Corteza y Raíz:** contienen fenoldienonas con esqueleto triterpénico y proantocianidinas dimétricas; saponinas, esteroides, derivados fenólicos, vitaminas y almidones; además contiene maytenina, metilepigalocatequina, hidroxitingenona, benzoil, diacetil mayteína, taninos catéquicos, maytansina, Mayteína y tingenona <sup>(14)</sup>.

### **2.2.3 Fundamento de investigación fitoquímica**

#### **2.2.3.1 Tamizaje Fitoquímica.**

Es un proceso en el cual se aplica técnicas de extracción sobre el material vegetal seco o fresco para separar los posibles constituyentes de la planta en función a la polaridad del solvente utilizado la afinidad de los metabolitos presentes en la planta <sup>(10,11)</sup>.

#### **2.2.3.2 Investigación Fitoquímica**

Nos permite determinar cualitativamente los grupos, químicos presentes en una planta y a partir de allí, orientar la extracción de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. También lo consideran como unas etapas iniciales de la investigación fitoquímica <sup>(10,20)</sup>.

**2.2.3.3 Metabolitos secundarios.** Son sustancias orgánicas que se encuentran en las plantas sintetizados en pequeñas cantidades a partir del metabolismo primario. Muchos de los metabolitos secundarios son pigmentos que proporcionan color a las flores y frutos, jugando un papel esencial en la reproducción atrayendo a insectos polinizadores que van a utilizar los frutos como fuente de alimento. También tienen un

importante valor medicinal, económico, en la industria cosmética, alimentaria y farmacéutica<sup>(10, 20,21,)</sup>.

Como ejemplos de metabolitos tenemos: Los compuestos fenólicos, cumarinas, saponinas, esteroides y alcaloides entre otros. Para el consumo de estos metabolitos secundarios, se requiere determinar dosis adecuadas que eviten efectos tóxicos a los seres humanos<sup>(20,21,)</sup>

Los **flavonoides** son pigmentos amarillos derivados de la fenil-benzo  $\gamma$  pirona o fenil cromona. Se dan mucho en el reino vegetal, normalmente en forma de heterósidas. Son una estructura molecular del tipo C6 – C3 – C6. Son una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua. Los **taninos** son sustancias complejas que no es posible clasificar dentro de una estructura química única, son polifenólicos hidrosolubles no nitrogenadas, de origen vegetal, de peso molecular entre 500 y 3000, que además de dar las reacciones clásicas de los fenoles, precipitan gelatina, sales de alcaloides y metales pesados se clasifican en: hidrolizables y condensados<sup>(20- 22)</sup>.

Las **Quinonas** son dicetonas aromáticas procedentes de la oxidación de fenoles. Hay varios tipos: Para Benzoquinonas: derivadas del benceno. Son muy activas (antimicrobianas , antifúngicas) Naftoquinonas: derivadas del naftaleno. Antibacterianas y antifúngicas. Los terpenoides están formados por la unión de un número entero de unidades de isopreno (C5). Según ese número se clasifican en: Monoterpenos (2 unidades de isopreno = C10), Sesquiterpenos (3 unidades de isopreno = C15), Diterpenos (C20), Triterpenos C30). Carotenos (C40), Politerpenos (Cn Dentro de los monoterpenos tenemos a los iridoides, lactonas sesquiterpenos y saponinas<sup>(20 -22)</sup>.

Las saponinas son sustancias que tienen poder espumante en soluciones acuosas, y son tenso activos naturales. También tenemos a los **alcaloides** que son grupo de productos naturales de mayor interés en la farmacognosia. Dentro de este grupo se encuentran sustancias tóxicas incluso a bajas dosis. Son sensibles a la luz y el calor, se estabilizan con ácidos inorgánicos y se encuentran en forma de sales <sup>(10, 21,22)</sup>.

#### **2.2.4 Caracterización Físico química de los extractos**

Si la materia prima cumple con los parámetros de calidad establecida en las normas correspondientes, las extracciones también cumplirán con la calidad de procesos de los extractos, cuyos principios activos las contengan dentro de los rangos normales. Para llevar a cabo estos ensayos existen métodos, técnicas establecidas por las farmacopeas Argentina Europea, española y monografías elaboradas por OMS <sup>(3- 5, 8,23)</sup>.

A continuación, se menciona algunos ensayos que se llevaron a cabo para determinar las características físico químicas del extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi).

**2.2.4.1 Características organolépticas.** Las propiedades organolépticas son todas aquellas descripciones de las características físicas que tiene la materia en general, según las pueden percibir los sentidos, por ejemplo su sabor, textura, olor, color. Su estudio es importante en las ramas de la ciencia en que es habitual evaluar inicialmente las características de la materia <sup>(24)</sup>.

#### **2.2.4.2. Ensayos para determinar sólidos totales o solubles**

Estos ensayos se realizan en los extractos de las plantas medicinales, se obtiene por acción del calor, mediante un proceso de evaporación de la porción de ensayo hasta el secado del residuo en estufa a 105°C colocando en una capsula tarada <sup>(5,23,25)</sup>.

#### **2.2.4.3. Ensayo para determinar la de densidad relativa o peso específico**

La densidad relativa es la relación que guarda entre masa de volumen de la sustancia a ensayar y la masa de volumen de agua a la misma temperatura ambas <sup>(5,23)</sup>.

#### **2.2.4.4. Definición de la acidez y determinación del pH.**

La acidez o alcalinidad de una solución viene a ser la medida del pH. El químico danés Sorensen definió el potencial hidrógeno (pH) como el logaritmo negativo de la concentración molar de los iones hidrógeno. El pH se puede medir de forma precisa mediante un potenciómetro, también conocido como pH-metro, un instrumento que mide la diferencia de potencial entre dos electrodos <sup>(26-27)</sup>.

La determinación del pH es uno de los procedimientos analíticos más importantes y más usados en ciencias tales como química, bioquímica, y a la vez determina muchas características notables de la estructura y actividad del comportamiento de las biomoléculas por lo tanto el comportamiento en un organismo <sup>(26-27)</sup>.

#### **2.2.4.5 Determinación del contenido de alcohol**

Es importante la medición del contenido alcohol en los extractos hidro alcohólicos, se fundamenta. En primer lugar, para normalizar el producto en cuanto a su componentes y características; el segundo porque es legal, fiscalizado para evitar intoxicaciones. Su graduación alcohólica se expresa en grados y se mide el contenido de alcohol absoluto en 100 CC. O sea, el porcentaje de alcohol que contiene una bebida o extracto <sup>(28,29)</sup>.

### **2.2.5 Valoración biológica**

**2.2.5.1 Toxicidad aguda.** Es la capacidad de una sustancia para producir efectos adversos dentro de corto plazo de tiempo (usualmente 24 horas, pero se admite hasta 14 días) después de la administración de una dosis única, (una exposición dada) o tras dosis o exposiciones múltiples en 24 horas. Dosis Letal 50 dosis, calculadas estadísticamente, de un agente químico o físico(radiación)que se espera que provoque la muerte al 50 por 100 de los organismos de una población bajo un conjunto de

condiciones definidas<sup>(30,31)</sup>.

### **2.2.5.2 Los Métodos biológicos o bioensayos**

Se define como la determinación de la potencia de un analgésico físico, química biológica. La principal desventaja de estos estudios es su falta de precisión, debido a la variabilidad biológica. Bernard afirmaba “nunca ningún animal es absoluto comprobable a otro, tampoco el mismo animal es comprobable así mismo si es examinado en tiempos diferente, pero en cambio encierra las siguientes ventajas<sup>(32)</sup>.

No es necesario conocer el principio activo y encontrarse en estado de pureza; En algunas ocasiones la sensibilidad de los bioensayos es muy superior a los métodos químicos físicos; Pueden indicar cuál es el isómero activo o inactivo, permiten valorar sustancias químicamente puras, pero muy inestables, en algunos casos puede ser el único método de valoración, la variabilidad viene expresada en términos de variación de efecto, en cuanto a su intensidad y su duración<sup>(32)</sup>.

Según Bernard “los métodos son buenos si son exactos, rápidos, y sencillos; Son malos si son inexactos, lentos y requieren un largo aprendizaje o hábitos”. La cantidad de droga necesaria para producir una respuesta, en la mayor parte de experimentos es generalmente muy pequeña entre 10mg.o menos la muestra debe prepararse en concentraciones bastante diluidas. La experimentación farmacología puede ser cualitativa o cuantitativa. Lo primero para demostrar la actividad o efecto existente, y lo segundo para determinar la concentración ideal a la que se produce el mejor efecto. Estudios en vivo, se llaman así cuando se utiliza el animal completo, sin quitarle vida, tienen ventajas con respecto a los órganos aislados<sup>(32)</sup>.

La respuesta es global, es decir no responde a un solo sistema, si no al organismo como un todo. Permite cuantificar dosis con mayor precisión, se puede observar reacciones adversas inmediatas, permite evaluar diversos parámetros. Los animales de

experimentación son: *Canis familiares* (perro), *Rattus rattus* (ratas) *rattus*, *Mus musculus* (ratón). Para determinar el efecto de una sustancia en estudios debe utilizarse diferentes grupos de animales a los que se les administra diferentes concentraciones en progresión geométrica<sup>(32)</sup>.

### **2.2.6. Toxicidad de las plantas**

Así como las plantas tienen el potencial curativo de ciertas dolencias y enfermedades también poseen el potencial de producir daño, toxicidad y muerte, su importancia desarrollar estudios que permitan determinar los efectos tóxicos y conocer la dosis terapéutica<sup>(32)</sup>.

#### **2.2.6.1. Dosis toxica.**

Es la cantidad de droga que puede producir daño permanente, pasajero en el individuo el grado de toxicidad guarda relación con la naturaleza de la droga administrada y esta puede presentar: En forma aguda, sub aguda, crónica. Los ensayos preliminares pueden realizarse en *Artemisa salina*. Pero se debe utilizar animales de mayor complejidad como ratones o ratas<sup>(32)</sup>

**2.2.6.2 Intoxicación aguda.** Es la aparición de un cuadro clínico patológico, muchas veces dramático, por la exposición de su corta duración, mediante una o varias dosis y con una absorción muy rápida (menos de 24 horas). Concentración letal (CL): Es la dosis que produce la muerte el 50% de una población de animales. Es obtenida estadísticamente, en mg/kg de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte, durante la exposición o en un plazo definido<sup>(31)</sup>

### **2.2.7 Descripción de la Artemia**

**Nombre científico:** *Artemia salina*

**Nombre común:** Artemia

La *Artemia salina* es un crustáceo diminuto que vive en lagos y lagunas salobres de interior. El cuerpo de la Artemia es delgado y alargado, y está cubierto por un caparazón blando. Su longitud y aspecto varía según la especie o las condiciones ambientales en las que viven. Está compuesto de tres partes bien diferenciadas: Cabeza, tórax y abdomen su tamaño oscila entre 7 y 12 mm de longitud, llegando a alcanzar hasta 18 mm en la etapa adulta. Ciclo reproductivo: Es óptimo de la *Artemia salina* oscila entre 25 a 32°C. Cuando las condiciones ambientales son adversas los huevos de Artemia se convierten en huevos císticos o de resistencia (quistes) gracias a las glándulas existentes en la cáscara, que segregan una película protectora que envuelve al huevo. Una vez desecados los quistes, el embrión entra en criptobiosis <sup>(34)</sup>.

Posteriormente, la hembra expulsa estos quistes los cuales se depositarán en orillas de charcas y lagunas interiores, empujados por el viento. Cuando las condiciones son favorables el quiste se hidrata, el embrión se desarrolla y rompe el huevo y surgen los nauplios. Éstos se desarrollan consumiendo algas y bacterias hasta su estado adulto. Ovíparo: Los huevos se desarrollan en el interior del útero, se transforman en huevos o quistes y son expulsados al exterior <sup>(34)</sup>.

### **2.2.8 Conceptos control de calidad.**

La calidad se asienta sobre tres pilares básicos: Cultura de la calidad, sistemas y recursos humanos, utilizando los métodos cuantitativos entre los que destacan la estadística. La calidad total en una organización no permite fallos en estos tres pilares. Todas las metodologías actuales hablando de calidad, incluida de seis Sigma, inciden consideran que la calidad es como un todo involucran a la organización completa, incluido los recursos humanos y los sistemas. En cuanto al uso de los métodos cuantitativos como herramienta para calidad total, es claro que utilizan el método científico como pilar indispensable en la calidad <sup>(35)</sup>.

El control de calidad es parte de las BPM y comprende: El muestreo, especificaciones y ensayos, los procedimientos de organización (documentación), que aseguren que los ensayos necesarios y pertinentes realmente se efectúen, y que no se autorice la venta o suministro de los productos, hasta que su calidad haya sido aprobada como satisfactoria. (Art. 2° - 6°)<sup>(36)</sup>.

La Gerencia de Medicina Complementaria es la unidad orgánica responsable de normar la atención de salud mediante la aplicación de la medicina complementaria y tiene dentro de sus funciones: Formular, proponer, evaluar las políticas, objetivos, estrategias y planes relacionados a la medicina complementaria. Considerando que esta Gerencia es una unidad orgánica recientemente creada de la Gerencia Central de Prestaciones de Salud, resulta necesario consolidar y fortalecer la prestación de los servicios, mejorando la oportunidad en el abastecimiento de los recursos, productos e insumos considerados en su Petitorio<sup>(37)</sup>

Se obviaron los procesos de recolección, selección, identificación taxonómica, debido que el Centro de Medicina Complementaria EsSalud adquiere las plantas medicinales de proveedores que cumplen con las especificaciones técnicas de productos descritos en el Petitorio Nacional de Productos, Recursos e Insumos afines de uso en Medicina Complementaria<sup>(37)</sup>.

### **III. HIPÓTESIS**

Hipótesis implícita

## **IV. METODOLOGÍA**

### **4.1. Diseño de la investigación**

El presente estudio de investigación fue de tipo descriptivo, observacional con enfoque cuantitativo y cualitativo.

### **4.2. Población y muestra**

#### **Población vegetal**

Se tomó 1200g. de corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) proveída por la Farmacia Natural del Centro de Medicina Complementaria (CAMEC) EsSalud-Red Asistencial la Libertad. Esta corteza fue triturada molido y tamizado, de este polvillo se pesó 1000g. Para realizar la extracción del extracto fluido.

#### **4.2.2.1 Muestra Vegetal**

Extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi)

#### **Criterios de inclusión.**

Corteza de Chuchuhuasi adquirida del Centro de salud de Medicina Complementaria Red –Asistencial la Libertad. Cuya muestra cumple con las especificaciones técnicas de los productos descritos en el Petitorio Nacional de Productos, Recursos e Insumos afines de uso en Medicina Complementaria.

#### **Criterios de exclusión.**

Cortezas de Chuchuhuasi que no pertenezcan al Centro de Medicina Complementaria Red- Asistencial La Libertad.

#### **4.2.1.2 Población biológica: Larvas de *Artemia salina***

**4.3.2.2 Muestras biológicas: Larvas de *Artemia salina***, fueron distribuidas de manera aleatoria de 18- 21 larvas por tubo en tres grupos (grupo control positivo, grupo control negativo y grupo experimental) dentro del grupo experimental se dividieron en seis grupos de distintas concentraciones)

**Criterios de inclusión.** Larvas que llegó a su nivel de desarrollo de eclosión

**Criterios de exclusión.** Larvas que no llegaron a su nivel de desarrollo de eclosión

### 4.3. Definición y Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADO RES	ESCALA DE MEDICIÓN
<p><b>Variable Independiente</b></p> <p>Características físico química</p>	<p>Característica física es todo aquello que presenta una forma determinada y se puede describir a partir de la observación.</p> <p>Composición química de una sustancia que a partir de los resultados cualitativos o cuantitativos permite su evaluación toxicológica.</p>	<p>Ensayos que permiten determinar las características físicas y químicas del extracto fluido de <i>Maytenus laevis</i>. Utilizando métodos y técnicas Establecidas.</p>	<p>Características físicas química del extracto fluido:</p> <p>Organolépticas, Sólidos soluble densidad relativa, pH</p> <p>Grado alcohólico.</p> <p>Evaluación de toxicidad aguda del extracto fluido sobre <i>Artemia salina</i>. Con las siguientes concentraciones:</p>	<p><b>Químicas:</b> Presencia (+) Ausencia (-) De coloraciones o precipitaciones</p> <p><b>Físicas:</b> Sabor, olor. Color</p> <p>Sólidos solubles (mg/ml), Densidad relativa (ml/°C) PH (ml/°C)</p> <p><b>Evaluación de toxicidad</b></p>	<p><b>Cuantitativa de razón</b></p> <p><b>Cualitativa nominal</b></p>

<b>Variable dependiente</b> Evaluación de toxicidad aguda	Son bioensayos que se usan en un tejido vivo, para evaluar los efectos de cualquier sustancia fisiológicamente activa. (Baudo)	El extracto fluido de la corteza de <i>Maytenus laevis</i> . (Chuchuhuasi) Se empleó seis concentraciones distintas	0.48ml/80mg	31%	
			0.24/40mg.	29%	
			0.12ml/20mg	10%	
			0.06ml/10mg	10%	
			0.03ml/5mg.	10%	
			0.015ml/2.5mg.	5%	

## **Variable independiente**

### **Caracterización físico química**

Caracterización física, todo aquello que presenta una forma determinada descrito a partir de sus propiedades observables <sup>(38)</sup>.

Composición química de una sustancia que comprende su identificación sobre su composición química de un material que se obtiene a partir de los resultados cuantitativos y cualitativos, permitiendo su evaluación toxicológica y dar seguridad biológica para su uso adecuado <sup>(39)</sup>.

## **Variable dependiente**

### **Valoración de toxicidad**

Son los bioensayos que se usan en un tejido vivo, u organismo, para evaluar los efectos de cualquier sustancia fisiológicamente activa <sup>(40)</sup>.

## **4.4. Técnicas e Instrumentos**

Los grupos estaban formados por:

**Grupo control negativo:** Este grupo estuvo formado por cuatro réplicas de cuatro tubos de concentración de dilución de 2ml de sal marina sobre larvas de *Artemia salinas* de 18 a 21 por cada tubo, por 24 horas, a temperatura del ambiente, con iluminación y oxigenación constante.

**Grupo control positivo:** Este grupo conformado también por cuatro réplicas de cuatro tubos de concentración de disolución de 0.2, ml de  $K_2Cr_2O_7$  sobre larvas de *Artemia salinas* de 18 a 21 por cada tubo por 24 horas a temperatura del ambiente, con iluminación y oxigenación constante.

**Grupo problema:** Grupo experimental estuvo conformado por cuatro réplicas de seis tubos de concentraciones distintas, diluciones del extracto fluido de *Maytenus laevis*

(Chuchuhuasi) sobre larvas de *Artemia salina* de 18 a 21 por cada tubo por 24 horas a temperatura del ambiente, con iluminación y oxigenación constante.

#### **4.4.1. Primera etapa**

**Observación macroscópica.** La parte macro morfológica estuvo basada en las inspecciones visuales, en la forma, tamaño, color característico superficial y texturas

#### **4.4.2 Segunda etapa**

##### **Estudio físico químico cualitativo**

##### **4.4.2.1 Extracciones sucesivas de menor a mayor polaridad**

Obtención de extracciones sucesivas y marcha Fitoquímica de los extractos alcohólico, hidroalcohólicos y acuosos para elegir el solvente adecuado. Con 5g de la corteza triturada de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi). Las extracciones se sometieron a tres extracciones sucesivas, mediante un sistema extractivo y técnicas de “screening” (tamizaje), Fitoquímica de mayor a menor polaridad<sup>(41)</sup>.

##### **Extracción alcohólica**

- Se pesó 5g de la corteza triturada en la balanza triple brazo 700/800 serie OHAUS US PAT. N. ° 2, 729,439.
- colocado en papel de aluminio.
- Se colocó a un Erlenmeyer de 250ml,
- Se vertió 50ml de alcohol de 96°
- Se colocó a una cocina eléctrica, hasta su ebullición
- Luego se subió a una distancia de temperatura de 40°C, ayudado por un sistema de reflujo.
- Se dejó a hervir por 20 minutos.
- Trascorrido este tiempo, se retiró y se filtro
- Se dejó enfriar previamente antes de realizar los ensayos

### **Extracción hidroalcohólicos**

El procedimiento y la muestra de la técnica, fue la misma muestra, que se utilizó para la extracción alcohólica.

- Se agregó 25ml de agua destilada y 25ml de alcohol de 96°

### **Extracción acuosa**

En este tercer procedimiento,

- Se utilizó 50ml de agua destilada
- La técnica de extracción y procedimientos, fue igual que los anteriores

**4.4.2.2 Evaluación** cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en los extractos alcohólicos, hidroalcohólicos y acuoso de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi), mediante marcha Fitoquímica.

Se empleó técnicas simples, rápidas y selectivas para la determinación los diferentes metabolitos secundarios de los extractos metabólicos, hidroalcohólicos y acuosos de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) para conocer y determinar el solvente adecuado para la extracción del extracto fluido <sup>(10,21)</sup>.

Para determinar los metabolitos, se utilizó las siguientes reacciones: Drangendorff para determinar Alcaloides, Ninhidrina para Aminoácidos libres, Gelatina para Taninos, Shinoda para encontrar Flavonoides, Liberman burchard Triterpenoides Borntrager para quinonas, Fehling A, B para encontrar Compuestos reductores, Tricloruro férrico para compuestos fenólicos y prueba de agua para encontrar Saponinas <sup>(20-22)</sup>.

### **4.4.3 Tercera etapa**

Procedimientos para obtención del extracto fluido a partir corteza de *Maytenus Laevis*. (Chuchuhuasi) <sup>(8, 9,44)</sup>.

#### **4.4.3.1 Procesos de: Trituración, tamizaje, humectación y maceración**

### **Método: Percolación Continua. USP XXX**

Se Trabajó con 1200g de la corteza *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi)

- En un mortero de fierro se trituro por partes, llevando a un molino de mano, marca corona para disminuir el grado de división de la muestra.
- Se tamizo en un tamiz circular KMW de 26cm. para obtener un tamaño de partículas de 0.25- 0.3 milímetros.
- Se pesó 1000g de la muestra tamizada en una balanza triple brazo 700/800 serie OHAUS US PAT. N.º 2, 729,439.
- Luego se colocó la muestra en un tazón de acero inoxidable para humectar con un solvente hidroalcohólicos de 50 grados.
- Mezclamos con una espátula de acero y a la vez agregamos el solvente por pocos, hasta observar una masa roja oscura, se dejó reposar por 20 minutos.
- Para todo este procedimiento se utilizó un volumen de 1500ml de solvente hidroalcohólicos de 50 grados.
- Luego se colocó en el percolador de vidrio de capacidad de 2000ml. En su parte inferior una capa de algodón, se transfirió la masa humectada por capas, presionando firmemente para que no quedo espacios vacíos llenos de aire.
- Por su parte superior del percolador se colocó una capa doble de papel filtro en forma circular y fijamos con una placa de canicas <sup>(9,44)</sup>.
- Se vertió 500ml de solvente hidroalcohólicos a 50 grados, con la finalidad que la muestra quedo totalmente cubierta con el solvente.
- Se abrió la llave inferior del percolador para recibir en un recipiente de vidrio un volumen aproximadamente de 50ml, luego se vertió por la parte superior.
- Finalmente se cerró el percolador adecuadamente hermético. Para un correcto hinchamiento y evitar su evaporación del solvente.

- Se dejó en maceración por 18 horas a temperatura ambiente <sup>(9,44)</sup>.

#### 4.4.3.2 Desarrollo de la percolación

##### **Método: Percolación Continua. USP XXX**

- Transcurrido el tiempo previsto de maceración, se comenzó el desarrollo de la percolación.
- Se abrió la llave de la parte inferior para permitir salir el percolado a una velocidad lenta de 60 gotas por minuto, se recogió el 70% de volumen equivalente a 700ml. Este volumen se conservó por separado <sup>(8, 9,44)</sup>.
- De inmediato se restituyó un nuevo solvente hidroalcohólicos del mismo grado alcohólico de la humectación.
- Durante este proceso de percolación se restituyó varias veces el solvente poco a poco hasta agotar la extracción total de sus metabolitos
- Se realizó la prueba de compuesto fenólico, con 2 gotas de cloruro férrico, para ver coloración verde, positiva, o da negativo y detener la percolación. <sup>(8,9)</sup>.

Cabe mencionar que a partir de segunda percolación se aumentó la velocidad de goteo por minuto, hasta llegar a la última percolación de un goteo continuo. A partir de la segunda percolación y las siguientes percolaciones sucesivas se obtuvo aproximadamente un volumen total de percolado de 3300 ml. el cual se redujo a 300ml por evaporación al vacío. Se dejó enfriar este volumen a temperatura ambiente, para luego mezclar con el volumen que se separó de la primera percolación equivalente a 700ml. Finalmente unimos y medimos su grado alcohólico <sup>(8, 9,44)</sup>.

Se dejó reposar por 5 días en un ambiente refrigerado, para sedimentar, luego se filtró. De este extracto fluido se tomaron 100ml, para sus respectivos estudios de control de calidad y toxicidad <sup>(8, 9,44)</sup>.

**4.4.3.3** Evaluación química cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en el extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi), mediante una marcha fitoquímica. Se separó el extracto fluido una alícuota en cada tubo de ensayo para observar las reacciones con las siguientes pruebas.

**Ensayos de Ninhidrina: Para determinar amina**

Se tomó una alícuota del extracto se vertió en el tubo de ensayo, 2 gotas de reactivo de Ninhidrina al 2% llevando a B.M. por dos minutos, para observar la coloración morado o azul violáceo <sup>(20-22)</sup>.

**Ensayo de Gelatina: Para determinar taninos**

En una alícuota de la muestra, se vertió 5 gotas gelatina, para observar un precipitado blanco cremoso <sup>(20-22)</sup>.

**Ensayo de Shinoda: Para determinar flavonoides**

En una alícuota de la muestra, se agregó el reactivo, 5 gotas de HCL puro, luego se colocó la cinta de magnesio metálico. Se esperó observar, que la reacción sea rojo oscuro intenso, con abundante espuma <sup>(20-22)</sup>.

**Ensayo de Lieberman Burchard: Para determinar triterpenoides y esteroides**

En la muestra, se agregó 5 gotas del reactivo de Lieberman Burchard más 5 gotas de ácido acético por las paredes del tubo llevando a B.M. Reacción positiva: color rojo marrón para triterpenoides y esteroides la presencia de anillo color verde <sup>(20,21)</sup>.

**Ensayo de Borntrager: Para determinar quinonas**

En la muestra se agregó 5 gotas del reactivo de Borntrager, más cloroformo. Para Observar la separación de dos fases. Reacción positiva, además de la visualización de la interface de la formación de anillo de color rojo o rosado oscuro <sup>(20-22)</sup>.

**Ensayo de Drangendorff: Para determinación alcaloides**

Se agregó primero el agua en la muestra, luego HCl. Concentrado llevaremos a B.M.

pasamos el sobrenadante, agregamos el reactivo. Para observar un precipitado rojo ladrillo <sup>(20-22)</sup>.

#### **Ensayo de Fehling: Para compuestos reductores**

Primero se mezcló Fehling A, B se, añadió a la muestra llevando a B.M por 10 minutos.

Se considera positivo, cuando se observe un precipitado rojo. <sup>(20-22)</sup>

#### **Ensayo de Tricloruro Férrico: Para compuestos fenólicos**

En una alícuota del extracto, se agregó un 1ml del reactivo considerándose positivo después de la aparición de coloración verde oscuro

#### **Ensayo de Espuma: Para determinar Saponinas**

En una alícuota del extracto agregamos 5 veces más el volumen de agua y agitamos fuertemente durante cinco minutos <sup>(20-22)</sup>.

### **4.4.4 Cuarta etapa**

Caracterización física del extracto fluido a partir de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi). Métodos: físicos- cuantitativos y cualitativos <sup>(5,8)</sup>

#### **Características organolépticas del extracto fluido**

##### **Métodos sensoriales**

**Determinación de olor.** Utilizamos una tira de papel secante de un 1cm de ancho por 10 cm de largo introduciremos en un tubo de ensayo en donde se vertió la muestra, al sacar el papel para percibir su olor característico a la planta de Chuchuhuasi <sup>(24,42)</sup>.

**Determinación del color:** En un tubo de ensayo bien limpio y seco, se vertió la muestra hasta las tres cuartas partes, para observar un color rojo oscuro y si hubiera separación de capas <sup>(24,42)</sup>.

**Determinación de su sabor:** Cogimos una pipeta con ½ ml de la muestra, para conocer su sabor.

#### 4.4.4.1 Determinación de sólidos totales o solubles

##### Método gravimétrico.

Cogimos dos capsulas de porcelana, se vertió 5ml de extracto previamente tarada, llevando a la estufa 105°C para ser evaporada hasta que el residuo este aparentemente seco, retiraremos de la estufa, colocamos en una desecadora hasta que alcance la temperatura ambiente <sup>(5,23,25)</sup>.

Pesamos cada muestra y realizamos los cálculos correspondientes

Utilizando la siguiente Fórmula:

$$St = \frac{Pr - P}{V} * 100$$

Dónde:

Pr = Masa de la cápsula con el residuo

P = Masa de la cápsula vacía (g)

V = Volumen de la porción de ensayo

100 = Factor matemático

#### 4.4.4.1 Determinación peso específico o densidad relativa

##### Método picnómetro

Se pesó el picnómetro vacío y seco, se llenó con la porción de ensayo, manteniendo a la temperatura de 20°C (+-1°C) durante 15 min, ajustamos el líquido al nivel empleado del picnómetro. Pesamos cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y repetiremos la operación con el agua destilada a 20°C, limpio el picnómetro <sup>(5,23)</sup>

Dónde:

$$D_{20^\circ} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

M1= Peso del picnómetro con la muestra de agua (g)

M2= Peso del picnómetro con la muestra del extracto fluido (g)

M = Peso del picnómetro vacío

#### **4.4.4.2 Determinación del pH**

##### **Método potenciómetro**

Sumergiremos la tira reactiva varios segundos en el extracto fluido, y observamos el cambio de color, comparamos con el peachimetro indicador universal <sup>(26,27)</sup>.

#### **4.4.4.3 Determinación del contenido alcohólico.**

##### **Método volumétrico**

Medimos en una probeta 500ml de la muestra, introduciremos el alcoholímetro marca Keisner giramos y dejamos que flote, inmediatamente anotamos el valor que se observó en la parte milimetrada del equipo <sup>(28,29)</sup>.

#### **4.4.5 Quinta etapa**

Ensayos de toxicidad aguda del extracto fluido de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) sobre larvas de *Artemia salina*.

##### **Método de Evaluación de micropocillos <sup>(47)</sup>**

Toxicidad aguda en *Artemia salina*

- Cuatro replicas por cada dilución de seis concentraciones distintas del grupo experimental, formado por cuatro réplicas de 18 a 21 larvas de *Artemia salina* en cada tubo
- Cuatro replicas por cada dilución de cuatro diluciones del grupo control positivo formado cada grupo de 18 a 21 larvas de *Artemia salina* por cada tubo.
- Cuatro replicas por cada dilución de cuatro diluciones del grupo control negativo formado cada grupo de 18 a 21 larvas de *Artemia salina* por cada tubo <sup>(47)</sup>

### **Sustancia de control toxicológico**

- Para el grupo experimental, extracto fluido de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) de 20 grados de alcohol. Para el grupo control positivo  $K_2Cr_2O_7$  y el grupo control negativo dilución de sal marina.

### **Modelo Biológico: Quistes viables**

#### **Selección de Quistes viables de *Artemia salina*.**

- Pesamos 50 g de quistes, para humectar con una solución de agua de sal marina (3.5 g) de sal marina en 1000ml agua destilada). Medimos 30ml de la solución, agregamos los quistes moviendo en forma circulatoria paulatinamente aumentando el volumen de la solución hasta llegar a 1000ml.
- Desechamos los quistes suspendidos con una torunda de algodón, luego observamos los quistes que permanecen y verificamos su viabilidad<sup>(47)</sup>

**Hidratación de los Quistes.** Dejamos por un tiempo aproximadamente una hora

**Incubación de los Quistes.** Tapamos con papel de aluminio, se dejó a temperatura ambiente, con iluminación de la luz constante y oxigenación, para obtener un óptimo desarrollo de la eclosión<sup>(47)</sup>

#### **Eclosión de Quistes**

- Larvas estadio I 24 h
- Larvas estadio II en 36 h, en esta etapa empezaron a crecer las larvas
- El pH fue de 7.5, el recipiente transparente de forma cónica.
- Dejamos por 36 horas para el desarrollo de eclosión
- Luego transferimos los quistes, con una micro pipeta en las diferentes diluciones de 18 a 21 larvas por cada tubo
- Etiquetado de los tubos, en diluciones: S1, S2, S3, S4, S5, S6
- Las 4 réplicas. A, B, C, D; Por cada dilución del extracto (100mg. /10ml)

- Grupo problema, siembra de mayor concentración a menor concentración. Dichas concentraciones fueron: 0.48ml/80mg, 0.24ml/40mg, 0.12ml/20mg, 0.06ml/10mg 0.03ml/5mg, 0.015ml/2.5mg.
- Grupo Control Negativo, con 2ml de sal marina
- Grupo Control Positivo, con 0,2ml de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> y 1.8ml de sal marina.

Después de 24 horas, dé realizar esta siembra, procedimos al conteo de larvas vivas y muertas.

#### **4.5 Plan de análisis**

Para realizar el control de calidad y toxicidad aguda y obtener los resultados se realizó los análisis estadísticos en las muestras del extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* Chuchuhuasi. Los resultados fueron procesados en tablas y gráficos, utilizando los programas estadísticos de: Excel, Microsoft, ANOVA y PROBIT.

#### 4.6 MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTE SIS	TIPO DE INVESTIGACIÓN Y DISEÑO	VARIABLES	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	PLAN DE ANÁLISIS
Caracterización físico química del extracto fluido de <i>Mayteus laevis</i> (Chuchuhuasi) y su toxicidad sobre <i>Artemia salina</i> .	¿Cuáles son las características físicas químicas del extracto fluido <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhua si) y su toxicidad sobre <i>Artemia salina</i> ?	<p><b>Objetivo General</b></p> <p>Determinar las características físicas química del extracto fluido de la corteza <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhuasi) y su toxicidad sobre <i>Artemia salina</i>.</p> <p><b>Objetivos principales</b></p> <p>Determinar las características</p>	Implícita	<p><b>Grupo control negativo:</b> formado por cuatro réplicas de cuatro tubos de concentración de dilución de 2ml de sal marina sobre larvas de <i>Artemia salinas</i></p> <p><b>Positivo:</b> Conformado por cuatro réplicas de cuatro tubos de concentración de disolución de 0.2, ml de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> Sobre larvas de <i>Artemia salinas</i>.</p>	<p>Características físicas químicas</p> <p>Evaluación de toxicidad aguda.</p>	<p>Ensayos que permiten determinar las características Físicas y químicas del extracto fluido de <i>Maytenus laevis</i>. Utilizando métodos y técnicas establecidas.</p> <p>El extracto fluido de la corteza de <i>Maytenus laevis</i>.</p>	<p><b>Químicas:</b> Presencia (+) Ausencia (-) Coloración y precipitación</p> <p><b>Físicas:</b> Sabor, olor. Color, Sólidos solubles (mg/ml), densidad (ml/°C) PH Grado alcohólico</p>	<p>Programas estadísticos de: Excel Micro soft, ANOVA y PROBIT.</p>

		<p>físicas del extracto fluido de la corteza <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhuasi)</p> <p>Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto fluido de la corteza de <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhuasi).</p> <p>Evaluar la toxicidad aguda del extracto fluido de la corteza de <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhuasi) sobre <i>Artemia salina</i>.</p>		<p><b>Grupo problema:</b> Conformado por cuatro réplicas de seis tubos de concentraciones distintas de diluciones de extracto fluido de <i>Maytenus laevis</i> (Chuchuhuasi) sobre larvas de <i>Artemia salina</i>. Todos los grupos de 18 a 21 larvas de <i>Artemias</i> por cada tubo por 24 horas, con iluminación y oxigenación constante.</p>		<p>(Chuchuhuasi) Empleando fue seis concentraciones distintas</p> <p>0.48ml/80mg 0.24/40mg. 0.12ml/20mg 0.06ml/10mg 0.03ml/5mg. 0.015ml/2.5mg.</p>	<p>(ml/)</p> <p><b>Evaluacion de toxicidad:</b> Muerte de <i>Artemias salinas</i> (ml/mg)</p> <p>31% 29% 10% 10% 10% 5%</p>	
--	--	--	--	--	--	--	---	--

#### **4.7 Principios éticos**

En la presente investigación experimental, en primer lugar, recogimos la información clara de todos los pasos que teníamos que realizar, así como el manejo de las técnicas e instrumentos de acuerdo a las especificaciones de bioseguridad de ingreso a los laboratorios de farmacognosia, y farmacología para elaborar el extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) y la caracterización físico-química del extracto y su toxicidad aguda sobre *Artemia salina*.

## V. RESULTADOS

### 5.1 Resultados

**Tabla 1.** Características organolépticas del extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi)

CARÁCTERÍSTICAS	OBSERVACIONES
Color	Rojo marrón oscuro
Olor	A madera
Sabor	Astringente ligeramente amargo
Consistencia	Líquido denso

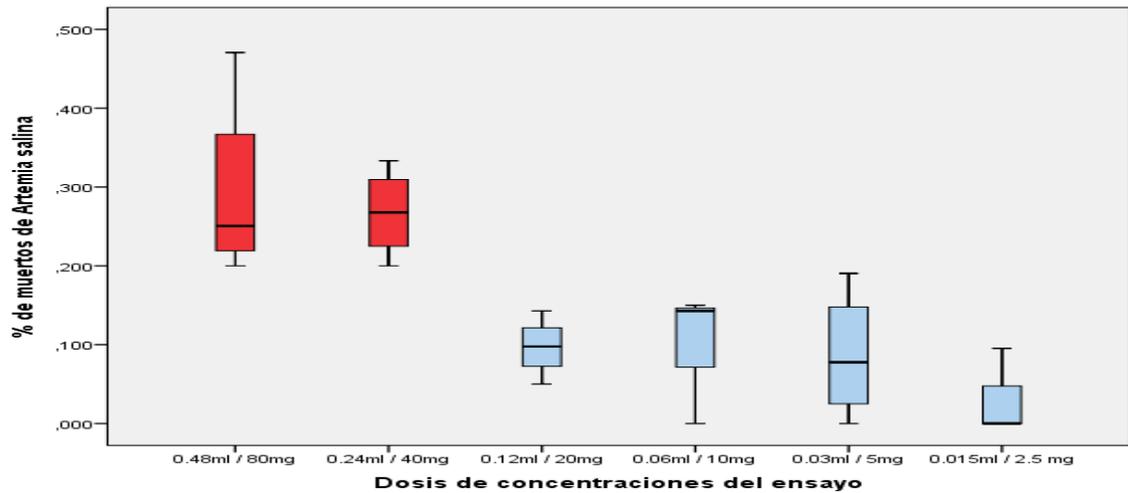
**Tabla 2.** Características físicas del extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi).

CARACTERÍSTICAS	VALORES
Sólidos solubles	163 mg/1ml.
Densidad relativa	1.6g/ml
Grado alcohólico	20°
pH	5

**Tabla 3.** Evaluación de metabolitos secundarios presentes en el extracto fluido de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi)

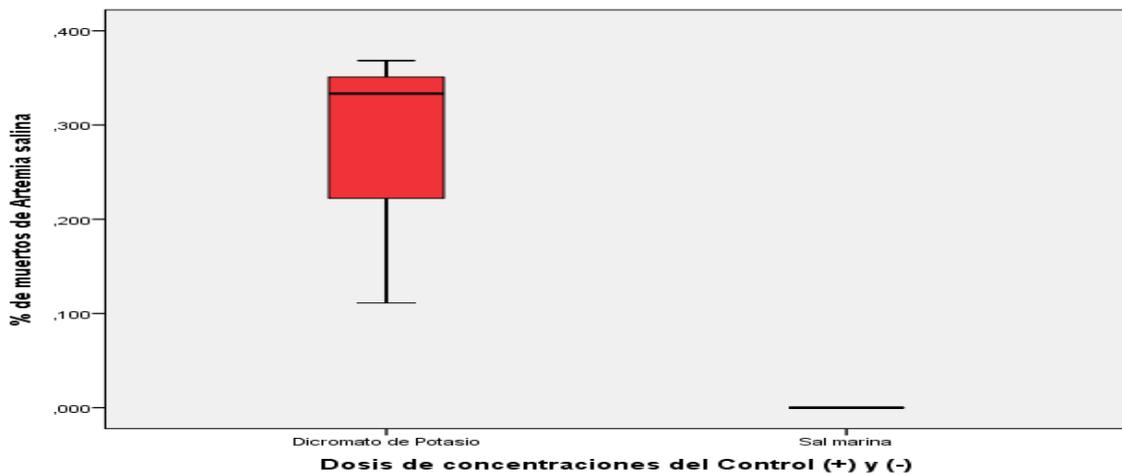
<b>METABOLITOS</b>	<b>REACCIÓN</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>OBSERVACIÓN</b>
<b>ALCALOIDES</b>	Drangendorff	+++	Precipitado rojo
<b>FLAVONOIDES</b>	Shinoda	+++	Espuma abundante, coloración rojo intenso
<b>TRITERPENOIDES</b>	Lieberma Burchard	+++	Coloración rojo marrón
<b>TANINOS</b>	Gelatina	+++	Precipitado blanco cremoso
<b>SAPONINAS</b>	Prueba de agua	+++	Persistencia de espuma, por más de 2 minutos
<b>AMINOACIDOS LIBRES</b>	Ninhidrina	++	Color violáceo
<b>QUINONAS</b>	Borntrager	++	Rojo oscuro a verde
<b>COMPUESTOS REDUCTORES</b>	Fehling (A, B)	++	Precipitado rojo cobre
<b>COMPUESTOS FENOLICOS</b>	Tricloruro Férrico	++	Color vede oscuro
<b>ESTEROIDES</b>	Lieberman burchard	-	No se observó el anillo Color verde

Significancia tabla (6) pagina (60)



**Gráfico 1.** Evaluación de toxicidad aguda del extracto fluido de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi), sobre *Artemia salina*

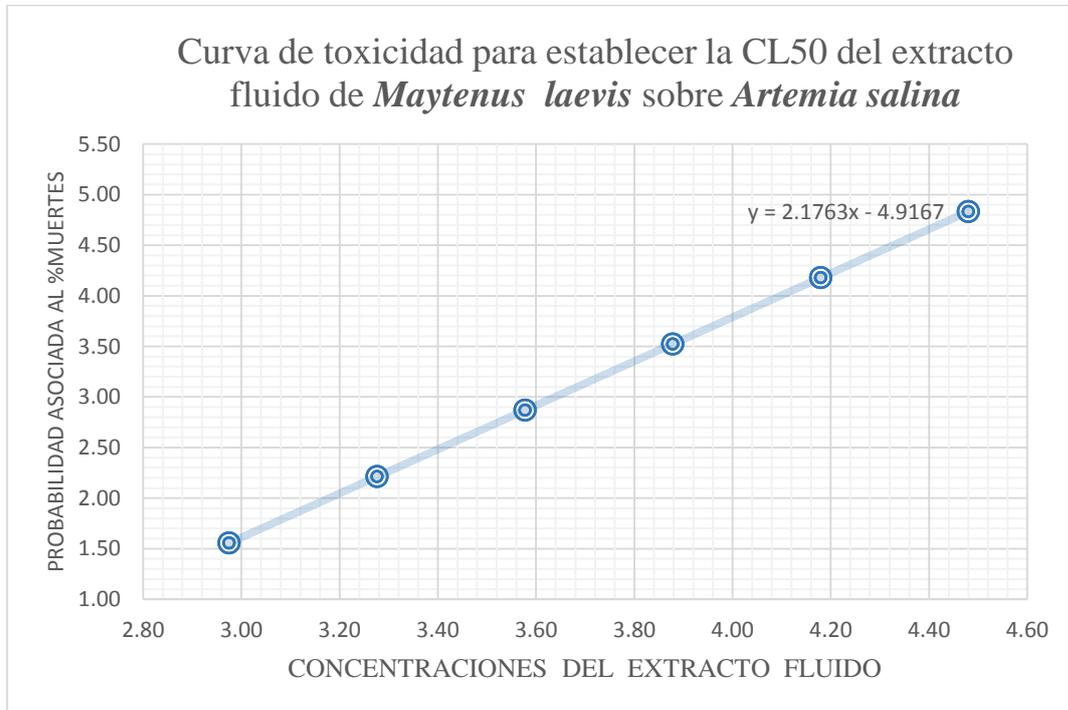
**Leyenda:** ■ Grupo de mayor porcentaje de muerte de *Artemia salina*  
■ Grupo de menor porcentaje de muerte de *Artemia salina*



**Gráfico 2** Evaluación de toxicidad aguda del control positivo con dilución de 0.2, ml dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ), y control negativo con dilución de 2ml. de sal marina, sobre *Artemia salinas*.

**Leyenda:** ■ Grupo control positivo presencia de muerte de *Artemia salina*  
■ Grupo control negativo, no presencié muerte de *Artemia salina*

**Gráfico 3.** Determinación de la curva de toxicidad aguda para establecer el valor de la CL50 del extracto fluido de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) sobre *Artemia salina*



$$CL50 = 10^{4.97} = 93210 (\mu g/ml)$$

Equivalente a **0.57mg. /ml**

## 5.2. Análisis de resultado

El género *Maytenus* es uno de los más representativos de la Familia Celastrácea, con más de 300 especies, distribuidas mayoritariamente en las zonas tropicales y subtropicales de África, Asia, Australia y América. (Ecuador, Perú). De este género han sido aislados metabolitos secundarios como flavonoides, triterpenos pentacíclicos principalmente del tipo friedelano, oleanano, lupano y ursano, sesquiterpenos y alcaloides. En diversas áreas de la Amazonía Peruana el polvo rojo de la corteza de una planta conocida como Chuchuhuasi, es usado de forma tópica y otras presentaciones<sup>(12-14)</sup>.

Mediante el empleo de los métodos físico químicos que se realizan sobre una droga entera, o pulverizada, permiten determinar y establecer la calidad y composición, de sus principios activos y completar su identificación y conservación de la droga<sup>(5, 8)</sup>

En la **tabla 1**, se aprecia las características organolépticas, presentes en el extracto fluido de *Maytenus laevis*(Chuchuhuasi).El extracto fluido presentó: Un olor a madera, sabor astringente ligeramente amargo, color marrón rojo oscuro, de consistencia densa. Son características propias de la corteza de Chuchuhuasi<sup>(12-14)</sup>

En la **tabla 2**, Se aprecian los resultados de las características físicas de los diferentes ensayos del extracto fluido de corteza de *Maytenus laevis* de sólidos solubles que se adquirió un polvo seco mediante la evaporación, cuyo valor es de 163mg por cada ml. Los sólidos solubles tienen que ver con muchos factores y métodos de extracción, lo cual representa el rendimiento de extracción en un extracto<sup>(5, 8,23)</sup>

La densidad, viene a ser la relación de la masa entre el volumen de la sustancia a ensayar a 20°C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico. En los líquidos el volumen varía mucho con la temperatura, lo mismo ocurre con su densidad. Cuando aumenta la temperatura aumenta el volumen, si no varía la masa disminuye el valor de la densidad. La densidad del extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) se obtuvo 1.6g/ml. a 25° C <sup>(23)</sup>.

El pH es un índice numérico que se emplea para expresar el grado de acidez o alcalinidad de una solución, a la vez determina muchas características notables de la estructura y actividad del comportamiento de las biomoléculas, por lo tanto, el comportamiento en un organismo. En el extracto fluido se apreció el valor de pH es de 5, este valor obtenido puede colaborar con las características ácidas débiles de las sustancias que se encontró en el extracto fluido de *Maytenus laevis* <sup>(24-25)</sup>.

El grado alcohólico volumétrico de una bebida alcohólica es la expresión en grados del número de volúmenes de alcohol contenidos en 100 volúmenes del producto, medidos a la temperatura de 20°C. Se trata de una medida de concentración porcentual en volumen. El grado alcohólico del extracto fluido de corteza de *Maytenus laevis* se obtuvo de 20° <sup>(28,29)</sup>.

En la **tabla 3**, se aprecia los metabolitos secundarios presentes en el extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi), en los resultados se observaron con mayor precipitación y coloración los siguientes metabolitos: Alcaloides reacción de Drangendorff, taninos reacción de Gelatina, flavonoides reacción de Shinoda, triterpenoides reacción de Liberman buchard y Saponinas con prueba de agua; Con respecto, Quinonas reacción de Bortrager, Aminas reacción de Ninhidrina, compuestos

fenólicos reacción de Tricloruro férrico y compuestos reductores con la reacción de Fehling A, B, se observaron con menor coloración y precipitación para. Esteroides con la reacción de Liberman bucharad dio negativo (-). Estos resultados son similares a los resultados encontrados por Egoavil et al, Quiroz, Salazar <sup>(11,13,14)</sup>.

En el **gráfico 1**, se aprecia los resultados de la evaluación de toxicidad aguda del extracto fluido de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) sobre *Artemias salina*. Este diagrama de cajas y bigotes nos muestra los porcentajes de larvas muerta de *Artemias salinas* según los niveles de concentraciones del extracto fluido en la cual podemos observar que existen dos grupos muy marcados, donde en un primer grupo se encuentran las concentraciones que tuvieron mayor porcentaje del color (rojo) de muertes de *Artemias salinas* y que no existe diferencia significativa entre ellas; el segundo grupo de color (azul) se ubican las concentraciones de menor porcentaje de muerte de *Artemias salina*, igual al grupo anterior no existe diferencia significativa entre ellas; Pero si existe diferencia entre cada grupo, pero con poca significancia ( anexos, página 66)

En el **gráfico 2**, se aprecia los resultados de la evaluación toxicológica sobre *Artemias salinas*, del dicromato de potasio (rojo) control positivo y disolución de sal marina como control negativo (azul) En este diagrama también de cajas y bigotes, se aprecia las diferencias entre estos dos grupos. Las concentraciones con K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O (rojo) tuvieron mayor porcentaje de muerte de *Artemia salinas*; y con respecto al segundo grupo de color (azul), cuya concentración fue de disolución de sal marina no se presencié ninguna muerte de *Artemia salina*.

Según los estudios de Salazar que evaluado la toxicidad del extracto hidroalcohólicos estableció la CL50. Los resultados obtenidos fueron: como dosis eficaz analgésica de

100mg/kg. Posteriormente también determinó que la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico en la concentración de 2000mg/kg que es una dosis letal, igual que Quiroz<sup>(13)</sup>. Benard afirma que “nunca ningún animal es absolutamente comprobable a otro” ni el mismo animal es comprobable así mismo analizando en diferentes tiempos, Pero en cambio encierran las siguientes ventajas. No es necesario conocer el principio activo, puede encontrarse en estado de pureza en algunas ocasiones la sensibilidad de los bioensayos son muy superiores a los métodos físicos químicos<sup>(31)</sup>.

**En el gráfico 3**, determinación de la curva de toxicidad aguda del extracto fluido de *Maytenus laevis* de la corteza de (Chuchuhuasi) en larvas de *Artemias salinas*. Para llegar obtener el valor de los datos. En primer lugar, se determinó la ecuación por el análisis de varianza, el valor p de F para luego poder compararse con la significancia ( $\alpha=0.05$ ), y poder concluir teniendo en cuenta dos hipótesis.

Ho: Las diferentes concentraciones del extracto fluido de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) producen el mismo efecto sobre *Artemia salina*.

H1: Las diferentes concentraciones del extracto fluido de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) producen un diferente efecto sobre *Artemia salina*. Se observa que en la prueba realizada el valor  $p < 0.05$  por lo tanto se rechaza la hipótesis nula (Ho), y se acepta la hipótesis alterna (H1)

Concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos y la ecuación del Modelo Probit es adecuada para poder determinar el valor de CL50<sup>(47)</sup>. Después de realizar la estimación de la ecuación lineal se procedió a encontrar el valor toxicológico del 50% de muertes, tomando en cuenta la ecuación y valor probit asociado a la CL50 se obtuvo el valor de 0.57mg. /ml una dosis muy baja en comparación de las dosis de ensayos que realizaron Salazar Quiroga<sup>(13.14)</sup>.

Este valor obtenido se comparó con las tablas de toxicidad de dicromato de potasio en un ensayo *de Artemia salina* y otros estudios. El extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi), no tiene un nivel significativo de toxicidad, el numérico de la CL50 en el presente estudio de evaluación en *Artemia salina* es de  $CL50 = 10^{4.97} = 93210 \text{ } (\mu\text{g/ml})$ . Tablas 16,17 <sup>(45-47)</sup>

En un presente estudio se realizó con el propósito de investigar la composición Fitoquímica y toxicidad de las plantas de uso medicinal en la Región Sur del Ecuador a partir de los extractos hidroalcohólicos enteros y liofilizados de especies de plantas medicinales de Zamora Chinchipe se pudo identificar metabolitos secundarios. Con los extractos enteros y se realizó el ensayo de letalidad sobre *Artemia salina*, usaron la técnica de micropocillos, para lo cual se tomaron de 18-20 náuplios y se pusieron en contacto con diluciones crecientes por 24 horas a 25-30 °C. Se contaron los náuplios al cabo de las 24 horas, luego agregó metanol y se determinó el número total de náuplios. Las lecturas se procesaron con método de Probit <sup>(47)</sup>.

Concluyéndose que tres extractos presentaron una toxicidad moderada con valores entre 100 y 1000 ugml-1 y siete no son tóxicas con valores de CL50 superiores a 1000 ug ml-1 <sup>(47)</sup>.

## VI. CONCLUSIONES

- Las características físicas en el extracto fluido de la corteza *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) fueron: Extracto fluido de consistencia densa, color rojo marrón oscuro, olor a madera, de sabor astringente ligeramente amargo, con pH de 5, grado alcohólico de 20° y valor de densidad fue 1.6g/ml. y de sólidos solubles 163mg/1ml.
- Los metabolitos secundarios presentes en el extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi), los que se identificaron fueron: Alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, triterpenoides con mayor presencia de coloración y precipitación, con respecto a los metabolitos de aminas, quinonas compuestos fenólicos y reductores, que también las contiene, pero con menor presencia.
- La evaluación de toxicidad aguda del extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) sobre *Artemia salina*. Según el análisis del diagrama de cajas y bigotes sobre los porcentajes de muerte de *Artemias salina*, demostró que sí existen diferencias entre la mortalidad de los diversos grupos de concentración, pero con poca significancia.
- Mediante el valor de CL50 se determinó, que el extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi), está dentro de la categoría de escala de toxicidad no tóxica

### **Aspectos complementarios**

Los resultados obtenidos de la presente investigación de los diferentes ensayos que se realizaron para conocer sus características físicas químicas del extracto fluido de la corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) se encuentran dentro los parámetros establecidos de controles que se realizaron en extractos de plantas medicinales; Pero existe otros ensayos más que se requiere conocer para obtener un control final y tomar la decisión para realizar fórmulas magistrales. Dejamos estos datos al Centro de EsSalud de Medicina Complementaria–Red Asistencial la Libertad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Marinoff, Mariela A. Las plantas medicinales desde la Biblia a la actualidad. Universidad Nacional del Nordeste de Comunicaciones Científicas y tecnológicas. Farmacia, Facultad de Agroindustrias, UNNE. Cdte. Fernández N° 755, H3700LGO Sáenz Peña, Chaco, Argentina. 2006. p N°1 [Citado en 27 junio 2018]. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/08-Exactas/2006-E-053.pdf>
2. Situación Reglamentaria de los Medicamentos. Organización Mundial de Salud Organización Mundial de la Salud, 2000 p 9, 10,12 [Citado 30 junio 2018]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/whozip58s/whozip58s.pdf>
3. Primer Congreso Iberoamericano. Revista de fitoterapia volumen 6 2006. p27. CYTED [https://www.fitoterapia.net/php/descargar\\_documento.php?id=4639&doc\\_r=n](https://www.fitoterapia.net/php/descargar_documento.php?id=4639&doc_r=n)
4. López Naranjo et al, Métodos de extracción e identificación de los bioactivos de la Lavándula officinalis y su potencial uso como agente sedante Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, vol. 44, México, 2013, p. 60-65 (p61) [Citado 26 de setiembre 2018]. Disponibles en la página [http://www.scielo.org.mx/scielo.php? Script =sci arttext&pid=S1870-01952013000100008](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?Script=arttext&pid=S1870-01952013000100008).
5. Análisis químico de plantas aromáticas y medicinales. (Consultado en julio 2018) Disponible en página web. <https://es.scribd.com/document/356968163/análisis-químicos-de-plantas-aromáticas-y-medicinales-2018-pdf>.
6. Martinez Hung, B., Hung Guzmán, B., Hernández Sosa, E., Audivert Hung, Caracterización físico química del extracto acuoso de Zuelania. SP Revista Cubana de Química, vol. XVIII, núm. 1, 2006, pp. 258-268 Universidad de Oriente Santiago de Cuba, Cuba. [Citado agosto 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf>

/4435/443543688088pdf

7. Q.F. Marcela Carmen Orozco Hayek. Elecciones más adecuadas para la obtención de extractos de plantas superiores con actividad sobre cepa de *Staphylococcus aureus* resistente. [Como requisito parcial para obtener el Grado de Maestría en ciencias con Orientación Terminal en Química Biomédica]. Universidad autónoma de nuevo león. Facultad de medicina. 2004 P13-14[Citado 26 de setiembre 2018]. Disponible en la página <http://eprints.uanl.mx/6668/1/1080123958.PDF>

8. Geneva. Quality control methods for medicinal plant materials World Health Organization. ISBN 92 4 154510 0 (Clasificación NLM: QV 766) TYPESET EN HONG KONG IMPRESO EN INGLATERRA. P 14-17, 24, 28-30-34, 50, 52, 71-78 <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41986/9241545100.pdf;jsessionid=BB78C3829EF06E53AC3B031ADFD62A56?sequence=1>

9. Carrión Jara A., García Gómez C. Preparación de extractos vegetales.Determinación de eficiencia de metódica. [Tesis previa a obtener el título de Bioquímica y Farmacia]. Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Químicas Escuela de Bioquímica y Farmacia 2010. P 27,30 [Citado julio 2018]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec./bistream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>

10. Tamizaje Fitoquímico o Screening Fitoquímica. Curso de Farmacognosia, dirigido por el profesor, Quispe Hilario. Universidad Inter americana para el Desarrollo UNUD. Facultad de Farmacia y Bioquímica Lima 2016. P 2. [Citado el 10 de junio 2018]. Disponible en la página: web [http://www.academia.edu./25502053\\_/tamizaje\\_fitoquímico](http://www.academia.edu./25502053_/tamizaje_fitoquímico).

11. Egoavil E, Roció del Pilar, Arévalo O, Fermín Humberto. Estudio de la Marcha

Fitoquímica de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi). Estudiantes de la Universidad Nacional Agraria la Molina. 2013. [Citado 20 junio 2018]. Disponible en: [http://www.lamolina.edu.pe/facultad/ciencias/dquimica/pergreenchemistry/?wpfb\\_dl=3](http://www.lamolina.edu.pe/facultad/ciencias/dquimica/pergreenchemistry/?wpfb_dl=3)

12. Mejía Rengifo E. Plantas Medicinales de uso Popular en Amazonía Peruana Lima, Agencia Española de Cooperación Internacional. Primera edición: 1995. Segunda edición corregida y aumentada: setiembre 2000. p286. Diseño gráfico y portada: Silvia Irene Santillán Editor: Enrique Uldemolins Página 72. [Citado 22 de mayo 2018] Disponible en: [http://repositorio.iiap.org.pe/bitstream/IIAP/74/2/Mejia\\_libro\\_2000.pdf](http://repositorio.iiap.org.pe/bitstream/IIAP/74/2/Mejia_libro_2000.pdf)

13. Quiroga Jara k. “Evaluación del poder analgésico y antiinflamatorio de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (Chuchuhuasi). [Tesis para optar por el título de Químico Farmacéutico]. Universidad Central del Ecuador Facultad de Ciencias Químicas Carrera de Química Farmacéutica Quito –Ecuador 2015. [Citado en 3 de junio 2018]. Disponible en la página Web. <http://studylib.es/doc/8381353/universidad-central-del-ecuador-facultad-de-ciencias-qu%C3%ADm>.

14. Salazar Llumiluiza . Desarrollo de un medicamento analgésico tópico de *Maytenus laevis* Reissek (Chuchuguaso). [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas. Carrera de Química Farmacéutica. Quito, abril del 2013. [Citado julio 2018]. Disponible en: <https://docplayer.es/32594099-Universidad-central-del-ecuador.html>

15. Acosta Láyonal G., Vásquez Jonathan, Núñez, Víctor Pino, Shiga, Betty. Efecto de *Maytenus macrocarpa* “Chuchuhuasi” en el sistema reproductor masculino del ratón (*Mus musculus*). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. -Perú 2013. Revista Peruana de Biología, vol. 20, núm. 3, marzo, pp. 223-226. [Citado en julio 2018]. Disponible: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/view/5219>

16. Apaella Pérez. Evaluación de metales en corteza de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi). De uso medicinal en la región de Loreto. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2015. [Citado en junio 2018]. Disponible en: [http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3574/Ra%C3%BAI\\_Tesis\\_Titulo\\_2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3574/Ra%C3%BAI_Tesis_Titulo_2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
17. Mendocilla Risco et al., Efecto de *Maytenus krukovii* “chuchuhuasi” en el tratamiento de osteoartritis leve-moderada. Ensayo clínico aleatorizado doble ciego, controlado con placebo. Revista peruana de medicina integral.2017; 2(1):21-9. [Citado agosto 2018]. Disponible en: [http://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/12/876669/efecto-de-maytenus-krukovii-chuchuhuasi-en-el-tratamiento-de-os\\_ux9IKVf.pdf](http://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/12/876669/efecto-de-maytenus-krukovii-chuchuhuasi-en-el-tratamiento-de-os_ux9IKVf.pdf)
18. Métodos de extracción. [Citado junio 2018]. Disponible en la página de internet. <https://es.scribd.com/document/327041001/PRACTICA-N-1-Metodos-de-Extraccion>
19. Métodos de extracción. Farmacognosia.Plantas Medicinales. [Citado 3 julio 2018]. Disponible en la Página web. <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/metodos-de-extraccion/>.
20. Palacios. Metabolitos primarios y secundarios. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote Escuela de Farmacia y Bioquímica. [Citado junio 2018]. Disponible en: [http://files.selvafarma.webnode.es/200000192-6def76ee8d/TEMA\\_04.pdf](http://files.selvafarma.webnode.es/200000192-6def76ee8d/TEMA_04.pdf)
21. Robles García et al, Identificación cualitativa de metabolitos secundarios y determinación citotoxicidad de extractos tempisque (*Sideroxylum capiri* PITTIER) Universidad de Sonora México. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud/ XVIII (3):3- (2016).[Citado junio 2018]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/>

publication/313200532\_Identificación\_cualitativa\_de\_metabolitos\_secundarios\_y\_determinación\_de\_la\_citotoxicidad\_de\_extractos\_de\_Tempisque\_Sideroxylum\_cap

22. Los principios activos de las plantas medicinales y aromáticas. Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales p1, 5-8. [Citado julio 2018]. Disponible en: <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema6.pdf>

23. Farmacopea Argentina Séptima Edición Volumen I. Ministerio de Salud de la Nación Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Instituto Nacional de Medicamentos. Buenos 2003. (Acceso julio 2018). Disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/pfds/Farmacopea\\_Argentina\\_2013\\_Ed.7.pdf](http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/pfds/Farmacopea_Argentina_2013_Ed.7.pdf)

24. Garbayo Otaño, «Evaluación Organoléptica y Diagnóstico en Edificaciones». Facultad de Arquitectura, Instituto Superior Politécnico José Antonio Echevarría, ISPJAE 2002. [Citado agosto 2018]. Disponible en: [http://kiwix.demo.ideascube.org/wikipedia.es/A/Propiedad\\_organol%C3%A9ptica.html](http://kiwix.demo.ideascube.org/wikipedia.es/A/Propiedad_organol%C3%A9ptica.html)

25. Sandra Piedad Aragadvay Yungan. Elaboración y control de calidad de tintura y gel cicatrizante y antiinflamatorio a base de chilca (*Baccharis lactifolia*) y hierbamora (*Solanum nigrum*). [Tesis previa a la obtención del título de Bioquímica y Farmacéutica]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias y Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador 2009. [Citado en 4 de agosto 2018]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/216/1/56T00190.pdf>

26. Determinación del pH. Guía para la utilización de las Valijas Viajeras Determinación del pH [Consultado 10 agosto 2018]. Disponible en: [http://imasd.fcien.edu.uy/difusion/educamb/propuestas/red/curso\\_2007/cartillas/tematicas/Dete](http://imasd.fcien.edu.uy/difusion/educamb/propuestas/red/curso_2007/cartillas/tematicas/Dete).
27. Medición del pH de ácidos bases y sales. Universidad tecnológica equinoccial. Laboratorio de química. (Consultado 10 agosto 2018). Disponible en: <https://docplayer.es/67785641-Universidad-tecnologica-equinoccial-laboratorio-de-quimica-medicion-del-ph-de-acidos-bases-y-sales-2-introduccion.html>
28. Destilación de terminación del grado alcohólico del vino. Universidad Católica Andres– Guayana. Escuela de Ingeniería Industrial Manual de Prácticas Laboratorio Química. [Consultado agosto2018]. Disponible en: [http://guayanaweb.ucab.edu.ve/tl\\_files/ingenieria\\_industrial/files/laboratorios/Semana%20N%203pract\\_03\\_de\\_st\\_vino.pdf](http://guayanaweb.ucab.edu.ve/tl_files/ingenieria_industrial/files/laboratorios/Semana%20N%203pract_03_de_st_vino.pdf)
29. Gilma B.M. Bebidas alcohólicas. Análisis fisicoquímico de alimentos [Consultado mes agosto 2018.p 17] Disponible en: [http://aprendeenlinea.dea.edu.co/lms/moodle/file.php/424/Gilma\\_Medina/Bebidas\\_alcoholicas/Bebidas\\_Alcoholicas.pdf](http://aprendeenlinea.dea.edu.co/lms/moodle/file.php/424/Gilma_Medina/Bebidas_alcoholicas/Bebidas_Alcoholicas.pdf)
30. Repetto Jiménez, M., & Repetto Kuhn, G. Toxicología Fundamental. 4ta Edición. Sevilla: Ediciones Díaz de Santos 2009. [Consultado el 10 agosto 2018]. Disponible en: <http://www.editdiazdesantos.com/wwwdat/pdf/9788479788988.pdf>
31. Introducción a la Toxicología. Aspectos básicos. [Citado el 15 agosto.2018] Disponible en: [http://www4.ujaen.es/~ajmoya/material\\_docente/Tema1.pdf](http://www4.ujaen.es/~ajmoya/material_docente/Tema1.pdf)
32. Dra. Villar López A, Dr. Mendocilla. Risco M. Farmacología de las plantas Medicinales Capítulo V. Universidad Nacional de Trujillo. p 65-69 [Citada en julio 2018]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia>

/cap5.pdf

33 Repto P. Sanz. Glosario de términos usados en toxicología Recomendaciones de IUPAC-1993. [Citada en agosto 2018]. Disponible en: [http://busca-tox.com/05pub/Glosario%20terminos%20toxicologicos %20toxicologia %20Repetto.pdf](http://busca-tox.com/05pub/Glosario%20terminos%20toxicologicos%20toxicologia%20Repetto.pdf)

34. Artemia salina. Un crustáceo muy salado. (Consultado en octubre 2018) Disponible en: [http://www.parquesnaturales.gva.es/documents/80302856/161549312/artemia+ Salina+ QR.pdf/c834ae27-e3ab-4c01-a13b-155bd4f40fb9](http://www.parquesnaturales.gva.es/documents/80302856/161549312/artemia+Salina+QR.pdf/c834ae27-e3ab-4c01-a13b-155bd4f40fb9)

35. Pérez Marqués. Control de calidad de técnicas y herramientas. Copyright. 2014. p1 [Consultado setiembre 2018]. Disponible en: [www.rclibros.es/pdf/capitulo\\_9788494180194.pdf](http://www.rclibros.es/pdf/capitulo_9788494180194.pdf)

36. BPM –Control de calidad en la industria farmacéutica. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas. Ministerio de salud Perú. (Consultado en setiembre 2018) Disponible en: [http:// www.digemid.minsa.gob.pe/ Upload/Uploaded/PDF/ Establecimientos/Reuniones/Reunion\\_I/I\\_Control\\_de\\_Calidad.pdf](http://www.digemid.minsa.gob.pe/Upload/Uploaded/PDF/Establecimientos/Reuniones/Reunion_I/I_Control_de_Calidad.pdf)

37. Lic. Adm. Arévalo Celis, Q.F. Huamán Huamani, Dr. Oscar Lezcano. Gerencia Central de presentaciones de salud, Gerencia de Medicina Complementaria dirección de gestiones de servicios y suministros. Informe de producción de las Farmacias naturales de Medicina Complementaria 2017. [Consultado julio 2018]. Disponible en: [http://www.essalud.gob.pe/downloads/gcps/medicina\\_complementaria/Estadisticas/ INFORME\\_FARMACIA\\_2017.pdf](http://www.essalud.gob.pe/downloads/gcps/medicina_complementaria/Estadisticas/INFORME_FARMACIA_2017.pdf)

38, Definición de Características. Definición ABC. (Consultado agosto 2018) Disponible en: [https://www. definicionabc..com/general/caracteristicas.php](https://www.definicionabc.com/general/caracteristicas.php)

39. Guía para la caracterización química físico química, mecánica de los biomateriales. Centro de Control Estatal de Equipos Médicos. Ministerio de Salud Pública República de Cuba. CCEEM GT.10.1999. (Consultado agosto 2018) Disponible en: <http://www.eqmed.sld.cu/Documents/Documentos%20regulatorios/Guias/gt10.pdf>
40. Baudo, R., 1987. Ecotoxicological testing with *Daphnia*, en PETERS, R. H. y R. DE BERNARDI (Eds.) *Daphnia*. Mem. Ist. Ital. Idrobiol. 45: 461 - 482. (Consultado agosto 2018) Disponible en: <https://www.mendoza-conicet.gob.ar/portal/enciclopedia/terminos/Ensayosde.htm>
41. López Villar , Dr Coussio, V.D. Rondina. Ensayo Crítico de un Método Rápido de Extracción de Material Vegetal Basado en el Pasaje Ininterrumpido de una Serie de Solventes. Instituto de la Química y Metabolismo del Fármaco (IQUIMEFA. UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires 1997. (Consultado agosto 2018) Disponible en: [http://www.latamjpharm.org/trabajos/16/3/LAJOP\\_16\\_3\\_3\\_1\\_Z706WI9EJ9.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/16/3/LAJOP_16_3_3_1_Z706WI9EJ9.pdf)
42. Ochoa Pacheco, Marin Moran, Rivero Breff, Aguilera Saborít..Caracterización física, físico-química y química de extractos totales de hojas frescas de *Petiveria alliacea*L. Con acción antimicrobiana. Universidad de Oriente Universidad Médica de Holguín “Mariana Grajales Coello” Rev Mex Cienc Farm 44 (1) 2013. (Consultado agosto 2018). Disponible en:<http://www.redalyc.org/pdf/579/57929946007.pdf>
43. Claudia Teresa Cruz Erazo, Luis Alberto Morocho Yaguana. Determinación de la concentración letal media en *Artemia salina* de diez extracciones hidroalcohólico de especies de plantas Zamora Chinchipe Técnica investigadora, Unidad de Fitoquímica del Laboratorio de Análisis Químico, Universidad Nacional de Loja, Ciudad dela

Universitaria Guillermo Falconí, La Argelia. Loja. Ecuador 2013. (Citado en agosto 2018). Disponible en: <http://unl.edu.ec/investigacion/revista/biotecnología-volumen-2/determinación>.

44. Fernández Gallardo. Maceración, percolación, tinturas. Guía de elaboración de formas farmacéuticas.2016. (Citado en agosto 2018). Disponible en: <https://esscribd.Com/doc/190017914/6-Maceracion-Percolacion-Tinturas-2013-II>

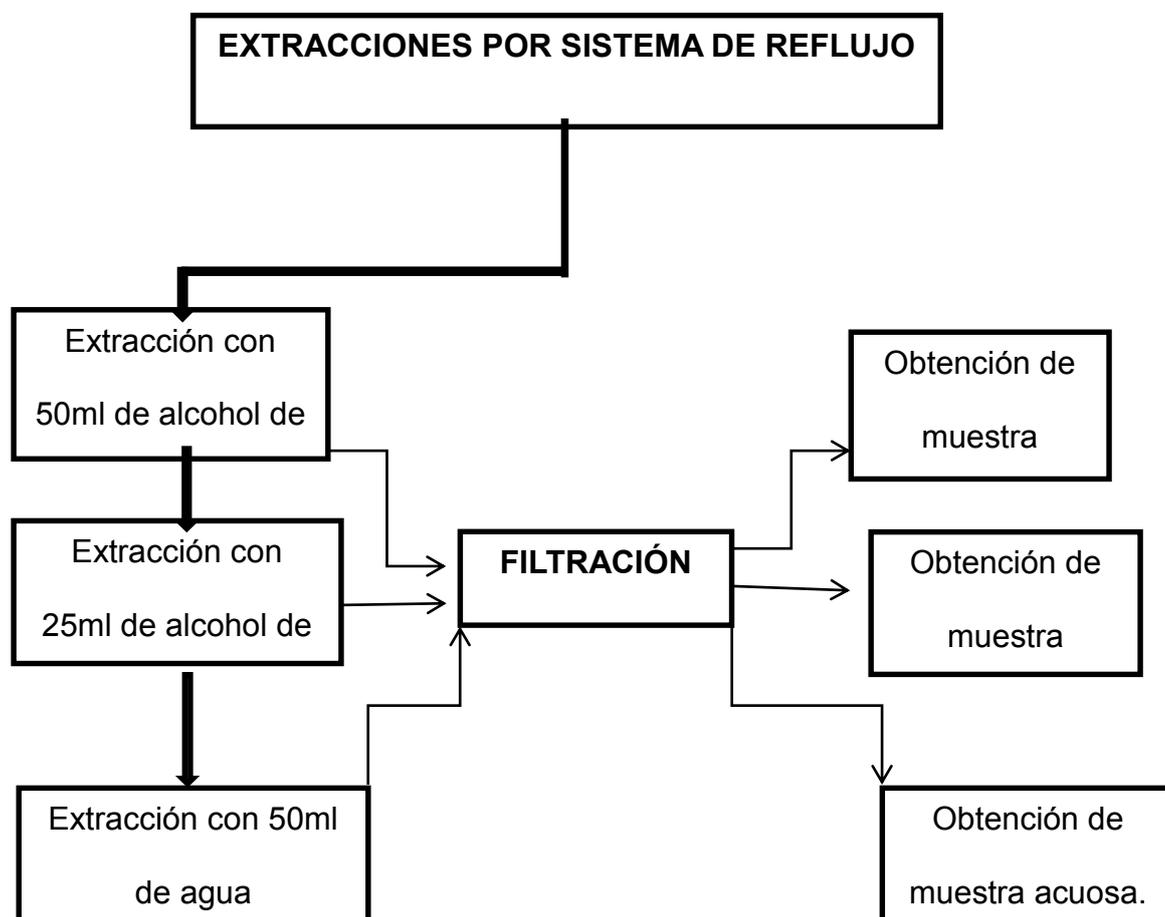
45. Dr. Valle Vega. Toxicología de alimentos. Instituto Nacional de Salud Publico Centro Nacional de Salud Ambiental. México, D.F. (Consultado setiembre 2018) Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/eswww/fulltext/toxicolo/toxico/toxico.pdf>

46. Lic. Yuleidis González Pérez, Lic. Patricia Aportela Gilling. Determinación de la toxicidad aguda del dicromato de potasio en Artemia salina. Centro de Toxicología y Biomedicina.2001;1(1):104-8.(Consultado 10 octubre 2018). Disponible en: [http://bvs.sldcu/revistas/anu/vol1\\_1\\_01/anu1701.pdf](http://bvs.sldcu/revistas/anu/vol1_1_01/anu1701.pdf)

47. Claudia Teresa Cruz Erazo, Luis Alberto Morocho Yaguana. Determinación de la concentración letal media en Artemia salina de diez extracciones hidroalcohólico de especies de plantas de Zamora Chinchipe Técnica investigadora, Unidad de Fitoquímica del Laboratorio de Análisis Químico, Universidad Nacional de Loja, Ciudadela Universitaria Guillermo Falconí, La Argelia. Loja. Ecuador 2013. (Citado en agosto 2018). Disponible en: <http://unl.edu.ec/investigacion/revista/biotecnología-volumen-2/determinación>.

## ANEXOS

**Tabla 4.** Proceso del desarrollo de las extracciones sucesivas con 5g. De corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi).



**Tabla 5.** Resultados de extracciones sucesivas de los extractos alcohólicos, hidroalcohólicos y acuosos con 5g, de corteza de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi).

EXTRACCIONES	CANTIDAD
Extracto alcohólico	10ml.
Extracto hidroalcohólicos	10ml
Extracto acuoso	10ml

**Interpretación:** La obtención de extracciones sucesivas de la corteza de Chuchuhuasi, de los extractos alcohólicos, hidroalcohólico y acuosos. El fundamento de este proceso es para saber que componentes extrae cada solvente, y que solvente es el más adecuado para extraer los principios activos, de mayor interés terapéutico

**Tabla 6. Interpretación de significancia y comparación**

SIMBOLOGIA	INTERPRETACION
+++	Muy abundante
++	Abundante
+	Moderado
+/-	Escaso
-	Ausente.

Fuente: Cririboga Ximena, practica de productos naturales 2012

**Leyenda:**

(+) Significa que se obtuvo una respuesta positiva de poca cantidad para ese metabolito en el extracto, (++) Significa que se obtuvo una respuesta positiva de mediana cantidad para ese metabolito en el extracto, (+++) Significa que se obtuvo una respuesta positiva de mayor cantidad para ese metabolito en el extracto, (-) significa que se obtuvo una respuesta negativa para ese metabolito en el extracto

**Tabla 7.** Evaluación fitoquímica de metabolitos secundarios en los extractos alcohólicos, hidroalcohólicos y acuosos de la corteza de *Maytenus laevis*. Chuchuhuasi

EXTRACTOS	PRINCIPIO ACTIVO	REACCIONES	RESULTADOS	OBSERVACIÓN	
Alcohólico				Precipitado Rojo	
Hidroalcohólico	Alcaloides	Drangendorff	++	Muy abundante	
Acuoso			+++		
Alcohólico					
Hidroalcohólico	Aminoácidos libres	Ninhidrina	+	Color morado	
Acuoso			++	Color violación	
Alcohólico					
Hidroalcohólico	Taninos	Gelatina	+++	Se observó un precipitado Blanco cremoso	
Acuoso			+++		
Alcohólico					
Hidroalcohólico	Flavonoides	Shinoda	+++	Espuma abundante y/o coloración Rojo intenso	
Acuoso			+++		
Alcohólico					
Hidroalcohólico	Triterpenoides y Esteroides	Liebermann Burchard	++	Rojizo marrón, Marrón muy intenso. No se observó el anillo color verde	
Acuoso			+++		
Alcohólico					
Hidroalcohólico	Quinonas	Borntrager	++	Rosado azul rápido	
Acuoso			++		Se observó rojo oscuro a verde.
Alcohólico					
Hidroalcohólico	Compuestos reductores	Fehling	++	Se observó un precipitado rojo. Rojo cobre	
Acuoso			++		
Alcohólico					

Alcohólico				Se observó un color verde oscuro, en las tres reacciones
Hidroalcohólico	Compuestos fenólicos	Tricloruro Férrico	++	
Acuoso			++	
Alcohólico	Saponinas	Agua	++	Espuma color cremoso
Hidroalcohólico			+++	Persistencia de espuma en la superficie más de dos minutos,
Acuoso			++++	

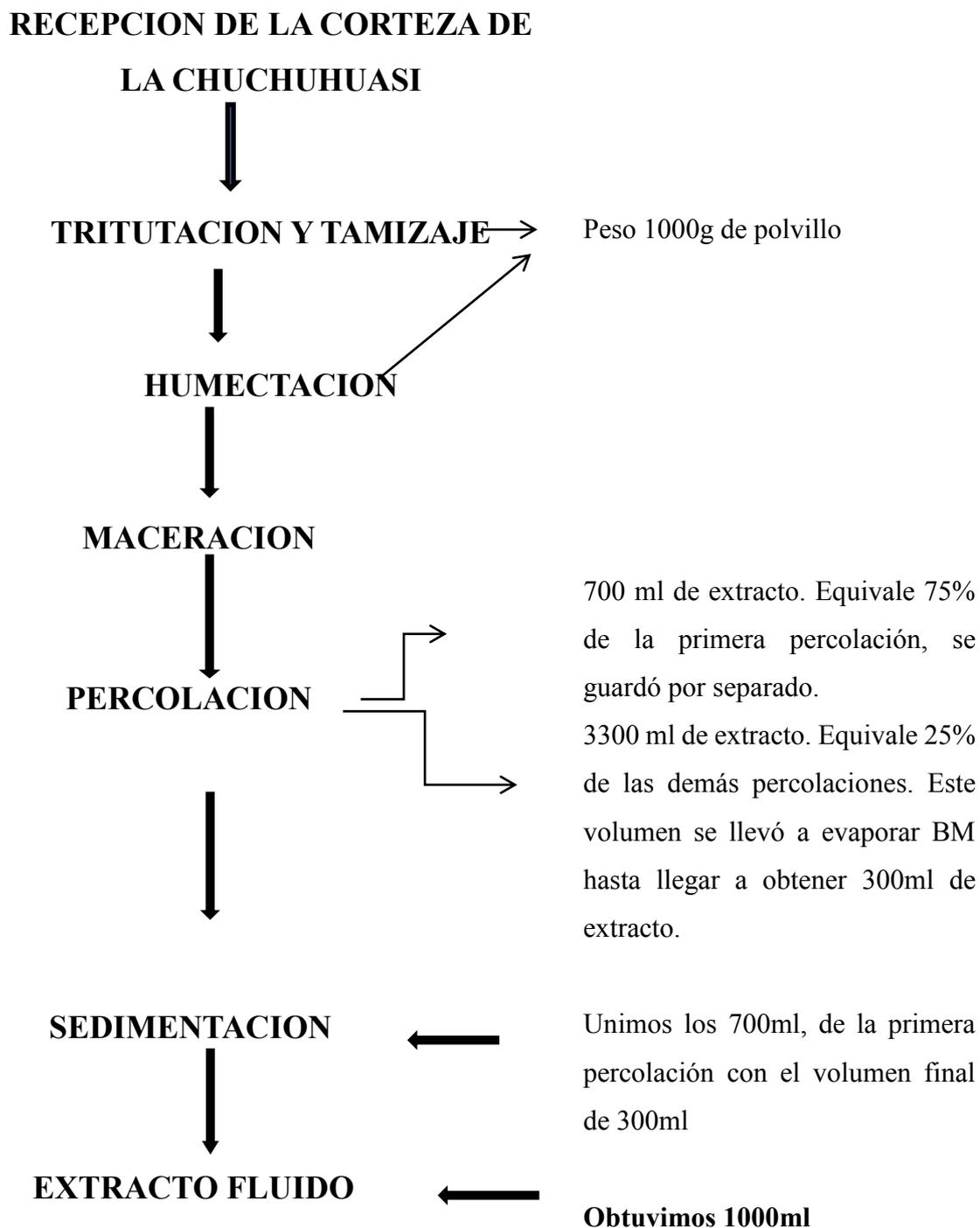
**Interpretación:** Resultado de las extracciones sucesivas: Alcohólicos, hidroalcohólico y acuosas mediante la marcha fitoquímica, los extractos hidroalcohólicos y acuosos se observó con mayor abundancia de precipitación y coloración para los metabolitos de: Alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos y Triterpenoides con las reacciones de: Drangendorff, prueba de agua, Shinoda. Gelatina y Liberman buchard, con respecto a los demás metabolitos que también están presente, pero en menor abundancia las coloraciones y precipitaciones de acuerdo a la tabla de significancia.

**Tabla 8.** Resultado de la identificación fitoquímica cualitativa de los extractos alcohólicos hidroalcohólico y acuosos de la corteza de *Maytenus laevis*. (Chuchuhuasi).

EXTRACTOS	SOLVENTES	SIGNIFICANCIA
Alcohólicos	50 grados de alcohol	++
Hidroalcoholicos	25 grados de alcohol	+++
Acuosos	Agua	+++

**Interpretación:** La identificación Fitoquímica cualitativa de los extractos alcohólicos, hidroalcohólico y acuosos, en a la cual se pudo apreciar que las reacciones de coloración y precipitación de los metabolitos secundarios, con mayor abundancia de coloraciones y precipitaciones fueron: En los extractos hidroalcohólico y acuosos (+++), con respecto a los extractos alcohólicos. Al obtener este resultado, y apoyado por la literatura de extracciones y conservaciones para la estabilidad de un extracto fluido se tomó decisión de realizar el extracto fluido con el solvente hidroalcohólico de 50 grados <sup>(28,29)</sup>

**Tabla 9.** Proceso de extracción del extracto fluido de la corteza *Maytenus laevis* (chuchuhuasi)



## CÁLCULOS MATEMÁTICOS

### Peso específico o densidad

Picnómetro con muestra → 22,0855 -

Picnómetro vacío → 11,4809

Peso de muestra → 10,6046

$$D = \frac{m}{v}$$

$$D = \frac{10,6046}{10} = 1,0646$$

### Sólidos solubles o totales

$$ST = \frac{P1}{V} + 100$$

Capsula pequeña + muestra 24,0750 -

Capsula vacía → 23,7224  
0,3526

V = 2 ml

O = 3526 ml = 0,1763

2ml

Capsula grande + muestra 36,2487

Capsula grande vacía 35,9502  
00,2985

0,2985 = 0,1492

2ml

Entonces → 0,1763 + 0,2985 = 0,3255

0,3255 = 0,16275 x 100

2ml

ST=163/1ml 163mg por cada 1ml
----------------------------------

**Tabla 10.** Datos del ensayo de toxicidad del extracto fluido de la corteza de *Maytenus Laevis* (Chuchuhuasi), sobre larvas *Artemia salina*

Concentraciones	0.48ml/80mg.			0.24ml/40mg			0.12ml/20mg.			0.06ml/10mg.			0.03m/5mr.l			0.015ml/2.5mg.		
	T	V	M	T	V	M	T	V	M	T	V	M	T	V	M	T	V	M
A	17	9	8	20	16	4	20	19	1	21	18	3	20	19	1	19	19	0
B	19	14	5	21	15	6	21	19	2	19	19	0	21	17	4	21	19	2
C	20	16	4	21	14	7	20	18	2	20	17	3	19	17	2	19	19	0
D	21	16	5	20	15	5	21	18	3	21	18	3	18	18	0	18	18	0
	77	55	22	82	60	22	82	74	8	81	72	9	78	71	7	77	75	2
<b>Total</b>	19	14	6	21	15	6	21	19	2	20	18	2	20	18	2	19	19	1

**CONTROL POSITIVO Y NEGATIVO**

	1			2			3			4		
	T	V	M	T	V	M	T	V	M	T	V	M
(+)	18	16	2	18	12	6	19	12	7	18	12	6
(-)	18	21	0	18	25	0	18	31	0	18	36	0

**LARVAS DE ARTEMIAS CL50**

Muestras de Grupos	(c)ug./ml	Repeti Ciones	Total	Vivas	Muertas	%Letal	ug./ml
1	78,240	4	21	16	5	24	
2	39,120	4	20	16	4	20	
3	19,560	4	21	18	3	19	
4	9,780	4	21	18	3	14	
5	4,890	4	18	18	0	10	
6	2,445	4	19	19	0	10	

Aplicación de la ecuación de la recta y cálculo de la CL50

<b>Ecuación <math>Y = mx + b</math></b>
---

$M = Y_1 - Y_2$  ,  $X_1 - X_2$       Donde X= a la concentraciones en microgramos

$$Y = \% \text{ VIVAS}$$

C.C ( ug/ml	% VIVAS	% MUERTAS
78,240	<b>69</b>	<b>31</b>
39,120	<b>71</b>	<b>29</b>
19,560	<b>90</b>	<b>10</b>
9,780	<b>90</b>	<b>10</b>
4,890	<b>90</b>	<b>10</b>
2,445	<b>95</b>	<b>5</b>

**Tabla 11** Evaluación de toxicidad aguda del extracto fluido de *Maytenus laevis* (Chuchuhuasi) sobre *Artemia salina*, según el análisis de varianza (ANOVA)

Origen	Suma de cuadriláteros	m g	Cuadrilátero promedio	F	Sig.
Concentración	0.398	7	0.057	9.59	0.00
Error	0.142	24	0.006	2	0
Total	0.541	31			

En la **tabla 11** se muestran los resultados de toxicidad aguda del extracto fluido de *Maytenus laevis* en larvas de *Artemia salinas*, en las siguientes concentraciones 0.48ml/80mg.,0.24ml/40mg.,0.12ml/20mg.,0.06ml/10mg.,0.03ml/5mg.,0.015ml/2.5g de solidos totales del extracto fluido cada dosis se repitió por cuadruplicado, para el control positivo 0.2ml de K2Cr2O7 y solución de sal marina. En el análisis estadístico (ANOVA), encontraron diferencias significativas entre la mortalidad obtenida en las 6 concentraciones de Chuchuhuasi y para el control positivo y negativo (F = 9.592; p<0.01). También se logró analizar, de forma general, el comportamiento de las concentraciones en (6 concentraciones de las dosis experimentales y 2 del control + y - ) y el análisis de varianza demostró que sí existen diferencias significativas entre la mortalidad de los diversos niveles de concentración; Pero con poca significancia entre cada grupo.

**Tabla 12.** Comparaciones múltiples concentraciones (ANÁLISIS POST – ANOVA).

(I) Dosis	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
				Límite inferior	Límite superior	
HSD Tukey 0.48 ml/ 80mg	0.24 ml	.02570	0.054	1.000	-0.155	0.206
	0.12 ml	,19594*	0.054	<b>0.027</b>	0.016	0.376
	0.06 ml	,18403*	0.054	<b>0.043</b>	0.004	0.364
	0.03 ml	,20653*	0.054	<b>0.017</b>	0.026	0.387
	0.015 ml	,26915*	0.054	<b>0.001</b>	0.089	0.450
	Dicro mato de Pota sio Agua de mar	.00641	0.054	1.000	-0.174	0.187
0.24 ml/ 40mg	0.12 ml	.17024	0.054	0.074	-0.010	0.351
	0.06 ml	.15833	0.054	0.115	-0.022	0.339
	0.03	,18083*	<sup>66</sup> 0.054	<b>0.049</b>	0.000	0.361

	ml						
	0.015 ml	,24345*	0.054	<b>0.003</b>	0.063	0.424	
	Dicromato de Potasio	-0.1929	0.054	1.000	-0.200	0.161	
	Agua de mar	,26726*	0.054	<b>0.001</b>	0.087	0.448	
0.12 ml/20mg	0.06 ml	-0.1190	0.054	1.000	-0.192	0.169	
	0.03 ml	.01059	0.054	1.000	-0.170	0.191	
	0.015 ml	.07321	0.054	0.873	-0.107	0.254	
	Dicromato de Potasio	-,18953*	0.054	<b>0.035</b>	-0.370	-0.009	
	Agua de mar	.09702	0.054	0.638	-0.083	0.277	
0.06 ml/10mg	0.03 ml	.02249	0.054	1.000	-0.158	0.203	
	0.015 ml	.08512	0.054	0.767	-0.095	0.266	
	Dicromato de Potasio	-.17762	0.054	0.056	-0.358	0.003	
	Agua de mar	.10893	0.054	0.502	-0.071	0.289	
0.03 ml/5mg	0.015 ml	.06263	0.054	0.938	-0.118	0.243	
	Dicromato de Potasio	-,20011*	0.054	<b>0.022</b>	-0.381	-0.020	
	Agua de mar	.08643	0.054	0.753	-0.094	0.267	
0.015 ml/2.5mg	Dicromato de Potasio	-,26274*	0.054	<b>0.001</b>	-0.443	-0.082	
	Agua de mar	.02381	0.054	1.000	-0.157	0.204	
Dicromato de Potasio	Agua de mar	,28655*	0.054	<b>0.000</b>	0.106	0.467	

**Interpretación:** Después de realizar el ANOVA se pasó a realizar la prueba Tukey donde se observaron las comparaciones de pares entre cada una de los niveles de concentración, donde:

- La concentración de 0.48 ml tiene diferencia significativa entre las concentraciones 0.12 ml, 0.06 ml, 0.03ml, 0.015 y agua de sal marina.
- En el nivel de concentración 0.24 ml tuvo diferencia significativa con las concentraciones 0.03 ml, 0.015 ml y agua de mar.

La concentración de 0.12 ml existe diferencia significativa solo con el  $K_2Cr_2O_7$

- El nivel de concentración de 0.06 ml no tiene diferencia significativa con ninguno de las concentraciones.
- La concentración 0.03 ml tiene diferencia significativa solo con el  $K_2Cr_2O_7$
- La concentración 0.015 ml tiene diferencia significativa solo con el  $K_2Cr_2O_7$

Mientras el control (+) solo tiene diferencia significativa con el control (--).

**Tabla 13. Agrupación de los niveles de concentración mediante Tukey y Duncan.**

Dosis	N	Subconjunto				
		1	2	3	4	
HSD Tukey <sup>a,b</sup>	Agua de mar	4	0.000			
	0.015 ml	4	0.024			
	0.03 ml	4	0.086			
	0.12 ml	4	<b>0.097</b>	<b>0.097</b>		
	0.06 ml	4	<b>0.109</b>	<b>0.109</b>	<b>0.109</b>	
	0.24 ml	4		<b>0.267</b>	<b>0.267</b>	<b>0.267</b>
	Dicromato de Potasio	4			<b>0.287</b>	<b>0.287</b>
	0.48 ml	4				0.293
	Sig.		0.502	0.074	0.056	1.000
Duncan <sup>a,b</sup>	Agua de mar	4	0.000			
	0.015 ml	4	0.024			
	0.03 ml	4	0.086			
	0.12 ml	4	0.097			
	0.06 ml	4	0.109			
	0.24 ml	4		0.267		
	Dicromato de Potasio	4		0.287		
	0.48 ml	4		0.293		
	Sig.		0.084	0.661		

**Interpretaciones:** En la presente tabla se observar que mediante el análisis de Tukey agrupa a las concentraciones en cuatro grupos diferentes, sin embargo, podemos notar que entre algunas de las concentraciones no existe diferencia significativa; mientras que al evaluar con Duncan solo agrupa a las concentraciones en dos grupos bien diferenciado.

**Tabla 14.** Resultados y cálculos de la CL50 de las muestras frente a las larvas de *Artemia salina*.

Dosis Chuchuhuasi	Log (D)	Total (N)	Muertos ( r )	% de muerte	Probit Empírico	Probit Estimado
78240	4.89	17	8	0.47	4.92	4.83
78240	4.89	19	5	0.26	4.36	4.83
78240	4.89	20	4	0.20	4.16	4.83
78240	4.89	21	5	0.24	4.29	4.83
39120	4.59	20	4	0.20	4.16	4.18
39120	4.59	21	6	0.29	4.45	4.18
39120	4.59	21	7	0.33	4.56	4.18
39120	4.59	20	5	0.25	4.33	4.18
19560	4.29	20	1	0.05	3.36	3.52
19560	4.29	21	2	0.10	3.72	3.52
19560	4.29	20	2	0.10	3.72	3.52
19560	4.29	21	3	0.14	3.92	3.52
9780	3.99	21	3	0.14	3.92	2.87
9780	3.99	19	0	0.00	0	2.87
9780	3.99	20	3	0.15	3.96	2.87
9780	3.99	21	3	0.14	3.92	2.87
4890	3.69	20	1	0.05	3.36	2.21
4890	3.69	21	4	0.19	4.12	2.21
4890	3.69	19	2	0.11	3.77	2.21
4890	3.69	18	0	0.00	0	2.21
2445	3.39	19	0	0.00	0	1.56
2445	3.39	21	2	0.10	3.72	1.56
2445	3.39	19	0	0.00	0	1.56
2445	3.39	18	0	0.00	0	1.56

**Tabla. 15** determinación de la ecuación para cálculo de la CL50

ANÁLISIS DE VARIANZA					
	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor p</i>
Regresión	1	30.045	30.045	17.699	0.000
Residuos	22	37.346	1.698		
Total	23	67.391			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	-5.82	2.16	-2.69	0.01	-10.29	-1.34
Variable X 1	2.18	0.52	4.21	0.00	1.10	3.25

Se determinó el valor p de F para luego poder compararse con la significancia ( $\alpha=0.05$ ), y poder concluir teniendo en cuenta dos hipótesis.

Ho: Las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos.

H1: Las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos. Se observa que en la prueba realizada el valor  $p < 0.05$  por lo tanto se rechaza la hipótesis nula (Ho), y se acepta la hipótesis alterna (H1), concluyendo que las diferentes concentraciones producen efectos distintos en los organismos prueba.

Concluyendo que la ecuación del Modelo Probit es adecuada para poder determinar el valor de CL50.

#### **Cálculos matemáticos para determinarla CL50**

$$5 = -5.82 + 2.18x$$

$$2.18x = 5 - 5.82$$

$$x = (5 - 5.82)/2.18$$

$$x = 4.97$$

$$dosis\ CL50 = 10^{4.97} = 93210\ (\mu g/ml)$$

$$dosis = 93210/163000 = 0.57\ (mg/ml)$$

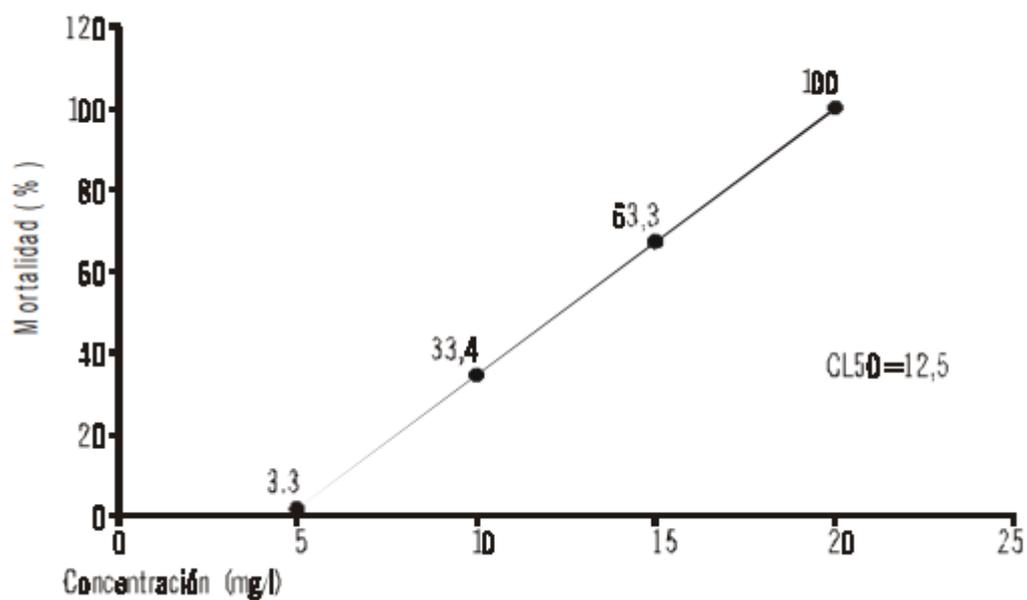
**Tabla 16** Determinación de la toxicidad aguda del dicromato de potasio en larvas de *Artemia salina*.

TABLA. Valores registrados para el cálculo de la LC50 24 h

Concentración mg/l	Número de artemias vivas por pocillo			T	P
	1	2	3		
0 (Control)	10	10	10	30	0
5,0	9	10	10	29	3,3
10	6	7	7	20	33,4
15	4	4	3	11	63,3
20	0	0	0	0	100

T= es el total de artemias vivas al final del ensayo para cada concentración.

P= es el porcentaje de artemias muertas al final del ensayo para cada concentración.



Interpolación de la CL50

**Tabla 17. Clasificación de toxicidades basada en unidades de toxicidad**

<b>Clasificación</b>	<b>Unidades de toxicidad</b>
<b>Muy tóxico</b>	$> 4$
<b>Toxico</b>	2-4
<b>Modernamente tóxico</b>	1.33-1.99
<b>Ligeramente tóxico</b>	$< 1.33$

**Fuente:** Saldaña et al 2002

## EVIDENCIAS DE LOS PROCESOS



Farmacia natural del centro de  
Medicina completaría Es salud



Lote N°100201



Análisis macroscópicos, e inspección de materias extrañas

Trituración, molienda tamizaje, humectación y percolación



Primera parte de la  
percolación, equivalente a  
700ml



Se agregó varias veces el solvente hidroalcohólico de 50 grados, hasta agotar el 99% de su extracción de sus metabolitos. Utilizamos el ensayo con cloruro férrico para demostrar si existen metabolitos y concluir la percolación.

### EVAPORACIÓN AL VACIO



Las siguientes percolaciones se llevaron, a evaporar en un depósito plano de acero inoxidable, se colocó encima de una olla con agua, y en la parte inferior una cocina eléctrica, se evaporó hasta llevar a 300ml, luego se unió con la primera parte que se separó en la primera percolación

## MARCHA FITOQUÍMICA



## REACTIVOS



## FOTOS PARA SACAR PORCENTAJE DE SOLIDOS SOLUBLES



## DETERMINACIÓN DEL PH



## DETERMINACIÓN DENSIDAD



## DETERMINACIÓN DEL GRADO ALCÓHOLICO



## DESCRIPCIÓN DEL EXTRACTO Y CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS



## DOCTORES QUE ME APOYARON PARA REALIZAR PARTE DE LOS PROCESOS



**FOTOS DE ENSAYOS TOXICIDAD AGUDA *Artemias salinas***



Presentación de Artemia en polvo seco, dilución con agua y sal marina

Siembra o eclosión por 36 horas con dilución de sal marina

Se dejó con oxígeno y foco prendido para dar calor, se midió el PH

Dilución del extracto fluido y siembra de artemia 18 a 21 artemias por cada tubo ,se repitio 4 veces, en diferentes concentraciones del extracto fluido se dejo por 24 horas



Conteo de Artemia vivas y muertas por cada tubo

