UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO

Facultad de Ciencias de la Salud

"DR. WILMAN RUÍZ VIGO"

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS TRITERPÉNICOS ENTRE EL EXTRACTO ETANÓLICO Y LA INFUSIÓN DE LAS HOJAS DE *Eriobotrya japonica* (NÍSPERO)

Edsgar Briones Carmona

Andy Genaro Portilla Galarreta

Asesor (a):

Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda

Cajamarca - Perú

Julio – 2020

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO

Facultad de Ciencias de la Salud

"DR. WILMAN RUÍZ VIGO"

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS TRITERPÉNICOS ENTRE EL EXTRACTO ETANÓLICO Y LA INFUSIÓN DE LAS HOJAS DE *Eriobotrya japonica* (NÍSPERO)

Tesis presentada en cumplimiento parcial de los requerimientos para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Bach. Edsgar Briones Carmona

Bach. Andy Genaro Portilla Galarreta

Asesor (a): Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda

Cajamarca - Perú

Julio – 2020

COPYRIGHT © 2020 by

EDSGAR BRIONES CARMONA

ANDY GENARO PORTILLA GALARRETA

Todos los derechos reservados

PRESENTACIÓN

SEÑORES MIEMBROS DEL JURADO DICTAMINADOR:

De conformidad con el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, sometemos a su evaluación y elevado criterio profesional la tesis intitulada:

EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS TRITERPÉNICOS ENTRE EL EXTRACTO ETANÓLICO Y LA INFUSIÓN DE LAS HOJAS DE *Eriobotrya japonica* (NÍSPERO).

Con la cual aspiramos obtener el título profesional de Químico Farmacéutico.

Es propicia esta oportunidad para manifestar nuestro sincero reconocimiento a nuestra Alma máter y a toda su plana docente, que con su capacidad y buena voluntad contribuyeron a nuestra formación profesional.

Señores miembros del jurado, dejamos a su disposición el presente trabajo de investigación para su evaluación y sugerencias.

Cajamarca, julio del 2020

Edsgar Briones Carmona
BACH. EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Andy Genaro Portilla Galarreta
BACH. EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

APROBACIÓN DE TESIS PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

Evaluación comparativa de la concentración de ácidos triterpénicos entre el extracto etanólico y la infusión de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero)

JURADO EVALUADOR

Mg Q.F. Yudith Gallardo Coronado
(PRESIDENTE)

Mg Q.F. Alexander Jair Ríos Ñontol
(SECRETARIO)

Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda
(VOCAL)

DEDICATORIA

A mis padres y seres queridos, especialmente a mi papá que desde el más allá siempre está conmigo; gracias a ellos por darme la vida y por haberme forjado la persona que soy en la actualidad; muchos de mis logros se la debo a ellos porque me formaron, me guiaron por el camino del bien para ser una gran persona motivándome constantemente para alcanzar mis metas.

Edsgar

DEDICATORIA

A mi querida madre Charito Galarreta León quien gracias a su esfuerzo permitió la culminación de mis estudios; de igual manera, a todas las personas cercanas que me apoyaron incondicionalmente durante este largo proceso de desarrollo del trabajo de investigación. Mil gracias por su ayuda.

Andy

AGRADECIMIENTOS

- *Al ser divino hacedor del universo, por permitirnos cumplir un sueño.*
- *A la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo y sus docentes por compartir sus conocimientos y sabiduría para forjarnos como buenos profesionales.*
- *A la Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda, por su aporte en la asesoría de la tesis, por su tiempo empleado desde la elaboración del proyecto hasta su ejecución.*
- *A nuestros amigos y familiares que estuvieron presentes en nuestra vida universitaria, un camino difícil, pero nada imposible, que de una y otra manera contribuyeron con su apoyo moral y espiritual para culminar este proceso de manera exitosa.*

Edsgar y Andy

RESUMEN

El propósito del trabajo de investigación fue comparar la concentración de ácidos triterpénicos entre el extracto etanólico y la infusión de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero) cultivadas en Cajamarca.

El material vegetal se obtuvo del distrito, provincia y región Cajamarca utilizando las técnicas de recolección y de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión, donde se procedió a la selección, limpieza y desinfección de las hojas para luego colocarlas a secar en forma de racimos colgadas en un ambiente con ventilación e iluminación natural sin ser expuestas a la luz solar. Luego se procedió a pulverizar las hojas a partir de las cuales se elaboró el extracto etanólico a una concentración del 20% y la infusión a la concentración del 4% con diferentes solventes. Se elaboró la curva de calibración a partir de diluciones de ácido ursólico en metanol con un grado de pureza al 95% descrito en su ficha técnica. Para la identificación de los ácidos triterpénicos se empleó el ensayo colorimétrico de Liebermann – Burchard y para la cuantificación de los mismos se utilizó el método espectrofotométrico a una longitud de onda de 548nm. Donde los resultados obtenidos mostraron mayor concentración de ácidos triterpénicos en el extracto etanólico (0,09 g/mL) frente a la infusión (0,008 g/mL), con valores promedios de 18,475 µg y 4,7 µg respectivamente y un valor *p* de 0,001 en la prueba T de student; existiendo una alta significancia en ambos preparados con respeto al estándar.

Palabras Clave: *Eriobotrya japonica*, ácidos triterpénicos.

ABSTRACT

The purpose of the research work was to compare the concentration of triterpene acids between ethanolic extract and infusion of *Eriobotrya japonica* (nispero) leaves grown in Cajamarca.

The plant material was obtained from the district, province and region Cajamarca using the collection techniques and according to the criteria of inclusion and exclusion, where the selection, cleaning and disinfection of the leaves was carried out and then placed to dry in the form of clusters hung in an environment with ventilation and natural lighting without being exposed to sunlight. The leaves were then sprayed, from which the ethanolic extract was produced at a concentration of 20% and the infusion at the concentration of 4% with different solvents. The calibration curve was developed from dilutions of ursolic acids in methanol with a purity rating of 95% described in its data sheet. Liebermann – Burchard colorimetric assay was used for the identification of triterpene acids and for the quantification of them, the spectrophotometric method at a wavelength of 548nm was used. Where the results obtained showed higher concentration of triterpene acids in ethanolic extract (0,09g/mL) versus infusion (0,008g/mL), with average values of 18,475 g and 4,7 g respectively and a p-value of 0,001, in student's T-test; there is a high significance in both prepared with respect to the standard.

Keywords: *Eriobotrya japonica*, triterpenic acids.

ÍNDICE

PRESENTACIÓN iii

JURADO EVALUADOR iv

DEDICATORIA v

AGRADECIMIENTOS vii

RESUMEN viii

ABSTRACT ix

INDICE..... x

LISTA DE FIGURAS xii

LISTA DE TABLAS xiii

I. INTRODUCCIÓN 1

II. MARCO TEÓRICO 4

2.1. Teorías que sustentan la investigación 4

2.2. Bases teóricas 12

2.2.1. *Eriobotrya japonica* "níspero" 12

III. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN 24

3.1. Unidad de análisis, universo y muestra 24

3.1.1. Unidad de análisis 24

3.1.2. Universo 24

3.1.3. Muestra 24

3.2. Método de Investigación 25

3.2.1. De acuerdo al fin que se persigue 25

3.2.2. De acuerdo al diseño de contrastación 25

3.2.3. Técnicas de investigación 25

3.2.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos 31

3.3. Técnicas de análisis de datos 33

3.4. Aspectos éticos de la investigación 33

IV. RESULTADOS 35

V. DISCUSIÓN 46

VI. CONCLUSIONES 51

VII. RECOMENDACIONES 52

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 53

ANEXOS 59

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: *Eriobotrya japonica* “níspero de japón” 12

Figura 02: Isopreno (2-Metilbutadieno) 14

Figura 03: Monoterpeno acíclico regular (Geraniol) ……... 17

Figura 04: Sesquiterpeno farnesol (Flores de tilo) ……..……. 17

Figura 05: Diterpeno Vitamina K1 ..……. 17

Figura 06: Estructuras generales de los triterpenoides pentacíclicos)……..… 19

Figura 07: Estructuras del ácido oleanólico y ursólico ($C_{30}H_{48}O_3$)…..... 19

Figura 08: Reacción de Libermann-Burchard …… …..... 23

Figura 09: Reacción de vainillina con ácido ursólico en medio acido…... 25

Figura 10: Influencia de las hojas de *Eriobotrya japonica* en el nivel de glucosa en sangre en ratones diabéticos inducidos con aloxano……...…….. 44

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de los terpenos ……... 16

Tabla 2: Preparación de las soluciones patrón para la elaboración de la curva patrón ……... 30

Tabla 3: Preparación de la curva de calibración…… 35

Tabla 4: Identificación de ácidos triterpénicos en hojas de *Eriobotrya japonica* …….. 36

Tabla 5: Comparación de valores de concentración obtenidos para cada uno de los cinco ensayos realizados a la muestra de extracto etanólico e infusión …… 37

Tabla 6: Promedio de la concentración de ácidos triterpénicos del extracto etanólico frente a la infusión…….. 39

Tabla 7: Resultado estadísticos de la prueba T-student para las muestras del extracto etanólico y de la infusión……..... 40

Tabla 8: Formas de utilización de la planta de *Eriobotrya japonica*… 43

Tabla 9: Metabolitos secundarios presentes en la parte vegetal (hojas, flores) de la planta de *Eriobotrya japonica*……...……... 43

Tabla 10: Efectos farmacológicos que se le atribuye a la planta (hojas y flores) de *Eriobotrya japonica*…….. 44

I. INTRODUCCIÓN

El ser humano desde tiempos muy remotos ha venido utilizando las grandes virtudes que poseen las plantas para mejorar su salud, existiendo en su entorno gran variedad del reino vegetal con fuentes medicinales importantes para dar paso a productos farmacológicos, que en la actualidad son considerados como elementos importantes dentro de la química farmacéutica por su gran variedad de nuevos agentes terapéuticos que se pueden encontrar.[1]

Debido a la gran acogida de los productos naturales que provienen del reino vegetal y son usados con fines terapéuticos en su mayoría son metabolitos secundarios, considerados por tener propiedades beneficiosas para la salud y que han sido los cimientos de la medicina, incrementando su arsenal terapéutico por ser utilizados como ingrediente principal en la elaboración de fármacos o fitofármacos.[1, 2]

Indudablemente como metabolitos secundarios están los terpenos que representan el grupo más extenso de los productos naturales con una diversidad de más de 25000 compuestos donde; es un recurso natural renovable transformados por la química farmacéutica convirtiéndose en potenciales agentes terapéuticos y a su vez proporcionando un amplio rango de productos comerciales cotidianos muy usados tales como: saborizantes, disolventes, fragancias, adhesivos, polímeros industriales, numerosos fármacos, compuestos agroalimentarios e intermediarios sintéticos.[1, 2]

Debido a la gran extensión y campo de aplicación de los terpenos y el creciente interés de aplicación terapéutica con beneficios para la salud humana, especialmente los ácidos oleanólico y ursólico ejercen una acción hepatoprotectora y

antimicrobiana, e incluso el ácido maslínico está siendo utilizado como aditivo dentro de la alimentación animal debido a que mejora la función hepática.[1, 2]

Los triterpenos poseen actividad hipoglucémica, anti-inflamatoria y anticancerígena, contra esta última se ha demostrado in vitro que los ácidos oleanólico y maslínico pueden inhibir la proliferación de células cancerosas y prevenir dicha enfermedad.[2]

Debido a lo antes mencionado, nuestra investigación proyecta realizar una evaluación comparativa entre el extracto etanólico y la infusión de las hojas de *Eriobotrya japonica*, con el fin de encontrar los niveles de concentración de ácidos triterpénicos para ser utilizados racionalmente dentro de los tratamientos alternativos y complementarios de la salud.

En base a lo descrito en los párrafos anteriores, se formuló la siguiente interrogante:

¿Existe diferencia significativa entre la concentración de ácidos triterpénicos que se presenta en el extracto etanólico y la infusión de las hojas de *Eriobotrya japonica*?

Para responder a la pregunta planteada se formularon los siguientes objetivos:

Como objetivo general:

- Comparar la concentración de ácidos triterpénicos entre el extracto etanólico y la infusión de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero).

Y como objetivos específicos:

- Determinar la concentración de ácidos triterpénicos presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero).

- Cuantificar la concentración de ácidos triterpénicos presentes en la infusión de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero).
- Proponer el uso de las hojas de *Eriobotrya japonica* en la población para el tratamiento complementario de algunas enfermedades, debido a la concentración de ácidos triterpénicos.

En base a los antecedentes se postuló la siguiente hipótesis:

- **La concentración de ácidos triterpénicos en el extracto etanólico de las hojas de *Eriobotrya japonica* es mayor frente a la infusión.**

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Teorías que sustentan la investigación

Siani A, Nakamura M, Dos Santos DS et al (2014)[3], en su publicación **"**Eficiencia y selectividad de la extracción de ácido triterpeno de decocciones y tinturas preparadas a partir de cáscaras de manzana", evaluaron la eficacia de extracción de los ácidos triterpénicos (ácido oleanólico y ácido ursólico) en extractos acuosos e hidroetanólicos de la cáscara de manzana a temperatura ambiente, donde los ensayos fueron sobre decocciones y tinturas (etanol: agua 7: 3 v/v) en el cual el contenido de estos triterpenos fueron evaluados por HPLC. Así, los extractos hidroetanólicos variaron entre 3,63 - 6.12 mg/g y 2,12 – 3,30 mg/g, correspondientes a 1,72 – 3,07 y 1,00 – 1,66 mg/g para el extracto acuoso. Posteriormente, los valores más altos del contenido de ácidos triterpénicos se obtuvo en los periodos de maceración de 10 a 30 días. En conclusión, el extracto acuoso contenía menos triterpenos debido a la baja solubilidad del solvente frente a la insolubilidad que tiene los triterpenos, por lo tanto, el 10% de extracto tuvo un rendimiento global de 40 – 50 % que están constituidos en promedio de 6,1 y 3,3 mg/g de ácido oleanólico y ácido ursólico.

Bing-Xin T et al (2017)[4], en su estudio **"**Triterpenoides bioactivos de las hojas de *Eriobotrya japonica* como inhibidores naturales de PDE4" aislaron compuestos bioactivos de las hojas secas de *Eriobotrya japonica* donde se identificaron triterpenoides entre ellos el ácido ursólico, ácido oleanólico entre

otros, esto mediante métodos espectroscópicos. Para la extracción de los triterpenoides se usaron diferentes **solventes** como aceto de etilo/agua al 80 y 85% y etanol/agua al 95% y al 100%; por ende, se extrajo con etanol al 95% cuatro veces por extracción a reflujo, y luego se eliminaron los disolventes para obtener el extracto crudo total de *Eriobotrya japonica* (1188,0 g). A continuación, el extracto crudo se suspendió en H_2O y sucesivamente dividido con éter de petróleo, cloroformo, acetato de etilo y *n*-butanol, donde se obtuvo la concentración de triterpenoides en el extracto de éter de petróleo (95.0 g), cloroformo (371,0 g), acetato de etilo (82,0 g) y *n*-butanol (239,0 g). Que finalmente la mayor extracción de triterpenoides se obtuvo en etanol/agua al 95% donde demostraron que las hojas de *E. japonica* tiene uso antiinflamatorio.

Vlasios G. y George M. (2011)[5], durante su estudio "Hacia un protocolo eficiente para Determinación de ácidos triterpénicos en fruta de oliva: Un estudio comparativo de secado y métodos de extracción" tienden a comparar cuatro métodos diferentes más utilizados para extraer ácidos triterpénicos (ácido oleanólico, maslínico) y evaluar su eficacia. El material de aceituna congelado se trituró y se extrajo con 4 métodos comunes: (i) sólido-extracción líquida, (ii) extracción asistida por ultrasonidos, (iii) extracción a 40 ° C y (iv) extracción Soxhlet. Todos los métodos de extracción se probaron usando como solventes al acetato de etilo, etanol y metanol: etanol (1: 1, v / v). Los resultados mostraron que la mezcla de metanol: etanol (1: 1, v/v) fue la más eficiente para la recuperación de ácidos triterpénicos, seguido de acetato de etilo, así mismo la comparación de los diferentes métodos de extracción reveló que la

extracción asistida por ultrasonidos con mezcla de etanol o metanoetanol son los métodos más eficientes para extraer ácidos triterpénicos de aceitunas.

Antonia F, Antonio M, Francisco R et al (2015)[6], según publicación "Efecto del solvente y la preparación de la muestra sobre determinación de compuestos de triterpeno Olive-mill en dos fases de Muestras de residuos", tuvieron como objetivo comparar dos diferentes disolventes como metanol o acetato de etilo y los diferentes procesos de preparación de muestras, para evaluar su eficacia en la extracción del contenido de triterpeno. Donde utilizaron 1 g de muestra y la disolvieron en 10 mL de metanol o acetato de etilo; continuando con los procedimientos y comparando con los estándares; identificaron una relación positiva de ácidos triterpénicos. Donde concluyen que el mejor resultado de extracción se alcanzó utilizando la muestra seca con metanol (287 mg/kg) que era claramente mayor que con acetato de etilo (181 mg/kg), por la cual los disolventes más recomendables para extracción de ácidos triterpénicos son etanol, metanol, acetato de etilo y el éter di-etílico, esto debido a su gran polaridad con los triterpeno.

ILu W, Wu J, Ren B et al (2007)[7], en su investigación "Estudios farmacológicos sobre efecto anti - hiperglucémico de las hojas de *Eriobotrya japonica*", demostraron el efecto antidiabético del extracto de etanol al 70% de *Eriobotrya japonica* en ratones normales y diabéticos, con niveles de glucosa en sangre de hasta 260 mg/dL, inducidos con aloxano (200 mg/kg vía intraperitoneal). La dosis utilizada fue de 15, 30 y 60 g/kg, siendo la de 30 g/kg más eficaz que la de 100 mg/kg de fenformina, entonces los sesquiterpenos

totales extraídos mejor en extracto etanólico tuvieron efecto significativo en la reducción de glucosa en sangre. Por tanto, *Eriobotrya japónica* es un vegetal excelente para desarrollar medicamentos en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 por el alto contenido de sesquiterpenos.

Ibarra, M (2009)[8], en su estudio "Efecto hipoglucemiante de *Tecoma stans* y *Eriobotrya japonica* y su relación con la presencia del cromo como factor de tolerancia a la glucosa", realizó la caracterización fitoquímica y determinación del cromo como factor de tolerancia a la glucosa en 3 extractos de las hojas de *Tecoma stans* y de *Eriobotrya japonica*, entonces ambos vegetales se sometieron a extracción acuosa, etanólica y hexánica donde el efecto antidiabético se determinó en animales de experimentación, administrando por via oral en todos los grupos. La hiperglucemia disminuyó hasta en un 33,5 % con 30 g/L de *T. stans*, 10,1% con picolinato de cromo y 32,3% con la mezcla de *T. stans* y picolinato de cromo. Con respecto a *E. japonica*, la hiperglucemia disminuyó en un 18,8 % con 40 g/L de *E. japonica* y 13,7% con picolinato de cromo y la mezcla de *E. japonica* con picolinato de cromo redujo un 19,1%.; para ambas plantas en 45 días de tratamiento. Se observó que el extracto etanólico de *T. stans* y el extracto acuoso de *E. japonica* son los que contienen mayor número de familias de metabolitos secundarios. Se identificó la presencia de alcaloides y sustancias terpénicas en la cromatografía de los 3 extractos de *T. stans* y *E. japonica*, respectivamente. La dosis utilizada fue en forma progresiva 0,6; 1,6; 5 y 25 g/L de extracto acuoso de *T. stans* y 10, 20, 30 y 40 g/L de *E. japonica* y monitoreando el nivel de glucosa a las 48 horas y 7 días después de administrar las diferentes dosis de las plantas. En conclusión,

esta investigación ha puesto de manifiesto que los extractos de níspero (variedad japonesa) reducen los niveles de glucosuria en los ratones diabéticos. Así como también en su composición fitoquímica identificaron gran variedad de metabolitos como: glucósidos sesquiterpénicos y los triterpenoides polihidroxilados, esteroles metilesteroles las cuales son sustancias presentes en el níspero, extraídos por los disolventes usados en la investigación.

Lü H, Chen J, Li W et al (2009)[9], en su estudio "Efectos hipoglucemiantes e hipolipidémicos de la fracción de ácido triterpeno total a partir de *Eriobotrya japonica*" confirmaron que el extracto de etanol al 70% de *Eriobotrya japonica* ejerció un efecto hipoglucemiante significativo en ratones diabéticos inducidos con aloxano y estreptozotocina, donde el glucósido sesquiterpeno aislado de *Eriobotrya japonica* mostró un efecto hipoglucémico. Se utilizó extracto etanólico al 75% en 30 litros con 5 kg de polvo de las hojas secas de la planta, obteniéndose 100 mg/mL de polvo amarillo claro como extracto total de ácido triterpénico (TTA). En la cual fue administrado vía oral a dosis (10 mL/kg de peso corporal) graduadas de Ácido Triterpeno Total (TTA) (100, 200, 300 mg/kg/día) durante 7 a 14 días. Los resultados mostraron que el etanol tiene una amplia afinidad por el TTA para su extracción. Por lo tanto, la fracción de ácido triterpeno total a partir de *Eriobotrya japonica* tiene un alto potencial anti - diabético junto con una buena actividad hipolipidémica.

Qa'dan F, Verspohl E, Nahrstedt A et al (2009)[10], con su estudio "Cinchonain Ib aislado de *Eriobotrya japonica* induce la secreción de insulina in vitro e in vivo", la investigación demostró que el extracto acuoso de

Eriobotrya japonica aumentó significativamente ($p < 0,05$) la secreción de insulina de las células INS - 1 de manera dependiente de la dosis. Sin embargo, la administración oral de este extracto a 230 mg/kg en ratas disminuyó el nivel de insulina plasmática hasta 240 minutos después de la administración causando una caída transitoria de glucosa en sangre a los 15 y 30 minutos después de la administración. Por otro lado, cinchonain Ib aumentó significativamente ($p < 0,05$) la secreción de insulina de las células INS - 1, mientras que la epicatequina inhibió significativamente ($p < 0,05$) la secreción de insulina de las células INS - 1. En conclusión, estos datos indican que cinchonain Ib tiene un efecto insulinotrópico recomendando el uso de los metabolitos secundarios extraídos de las hojas de *E. japonica* para controlar la diabetes tipo 2.

Tamaya k et al (2010)[11], con su estudio "Supresión del nivel de glucosa en sangre por un nuevo té fermentado obtenido por procesamiento de té de laminación de níspero y hojas de té verde en ratas Sprague - Dawley (SD) de disacárido - cargado", los autores desarrollaron con éxito un nuevo té fermentado (té LG) mediante la co - fermentación de la hoja de níspero (*Eriobotrya japonica*) y la hoja de té verde cosechada en verano. El objetivo de este estudio fue demostrar el efecto hipoglicemiante del té LG en ratas Sprague - Dawley (SD) hiperglicémicas, recomendándose su uso dentro de la dieta alimenticia en diabéticos. Como resultado de la administración oral del extracto de agua caliente de té LG (50 mg kg) en ratas SD hiperglicémicas disminuyeron los niveles de sangre a los 30 minutos significativamente, representando un 23,8% ($P < 0,01$).

Toshima A et al (2010)[12], en su estudio "Identificación de inhibidores de la alfa-glucosidasa de un nuevo té fermentado obtenido mediante el procesamiento de laminado de té de níspero y hojas de té verde" identificaron α - inhibidores de la glucosidasa, donde aislaron 13 α - inhibidores de la glucosidasa o maltasa, incluyendo catequinas, acido gálico, teasinensinas, estrictinina y 1,6 – digaloilglucosa. En este estudio el té laminado tuvo una actividad inhibidora de la maltasa tres veces más (0,065 mg extracto extraído por mL) que la hoja de níspero constituyente o el té verde solo. Además, este té inhibió favorablemente la acción de la maltasa en lugar de la acción de la sucrasa. Como resultado de las separaciones por cromatografía líquida de alto rendimiento bio-guiadas del té laminado, la teasinensina A, la teasinensina B, la estrictina y la 1,6 - digaloilglucosa se identificaron nuevamente como inhibidores de la maltasa con valores de 142, 225, 398 y 337 micromol/L respectivamente, junto con catequinas y aflavinas previamente identificadas. En conclusión, las catequinas fueron los principales candidatos responsables de la inhibición de la alfa - glucosidasa o maltasa en el té laminado, seguidas de las teaflavinas, las teasinensinas, la estrictina y 1, 6 – digaloilglucosa.

Castro K (2015)[13], en su investigación "Características generales del níspero", encontró que este fruto tiene actividad antidiabética utilizando decoctos y extractos acuosos de hojas frescas en éter y etanol. La decocción fue administrada en conejos a las dosis de 100 y 200 mg/kg por vía intragástrica, mostró actividad hipoglicémica. Actividad detectada también con un extracto metanólico a la dosis de 40 mg/kg inyectado en ratones por vía intraperitoneal. Además, se observó el efecto hipoglicémico e hipocolesterolémico en adultos

humanos tratados por vía oral administrando la decocción de la planta a la dosis de 500 mg/persona. Concluyendo que en los extractos hubo presencia de sesquiterpenos, glicosilados de herolidol, triterpenos ácido maslínico, su éster metílico, el ácido tri – hidroxi – urs – 12 – en – 28 - oico, ácido ursólico y su derivado hidroxilado; además los flavonoides hiperósido posibles responsables de la actividad terapéutica.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. *Eriobotrya japonica* "Níspero de japón"

Es un árbol frutal nativo del sud este de China donde se conoce desde hace más de 2000 años. Etimológicamente *Eriobotrya* proviene del término griego erion (lana) y botrys (racimo), esto es debido a su inflorescencia. Este árbol que procede del medio oriente está distribuido en muchos países de Europa y América del Sur que crece mayormente en valles interandinos y en Perú se tiene bosques frutales en el norte y sur.[14]

Puede alcanzar hasta 6 m de altura, sus hojas pueden ser de forma ovada y un tanto alargadas que miden entre 8 y 25 cm, son resplandecientes por el anverso y peludas por el reverso. Las flores son blancas. Los frutos son pulposos y de color rubio. Habita en climas cálido y semicálido, cuyos pisos están entre los 200 y los 2000 msnm. La mayoría de familias lo cultivan en huertos, solares.[14]

Figura 01: ***Eriobotrya japonica*** **"Níspero de japón"**

Fuente: Stüber's K. Biologischen Fachbibliothek. In: Flora Japonica SPT, editor. Alemania 2003.[15]

2.2.1.1. Descripción taxonómica

Reino	: Plantae
Subreino	: Tracheobionta plantas vasculares
Superdivisión	: Spermatophyta plantas con semillas
División	: Magnoliophyta plantas con flores
Clase	: Magnoliopsida dicotiledóneas
Orden	: Rosales
Familia	: Rosaceae o rosaseas
Género	: Eriobotrya
Especie	: japonica
Nombre científico	: *Eriobotrya japonica*
Nombre común	: Níspero de japón

2.2.1.2. Etnobotánica y antropología

El fruto de este árbol es recomendado para pacientes diabéticos, lo utilizan mayormente en infusión principalmente con hojas o flores, lo beben sin añadir azúcar, por tres veces al día o como agua de tiempo antes de los alimentos. También está indicado en pacientes que padecen de várices o mala circulación e inflamaciones del riñón. El cocimiento del fruto y su corteza se usan para disminuir el ácido úrico de la sangre, destruir litiasis renal y vesicular y en pacientes que padecen de nerviosismo.[13]

2.2.1.3. Química

En las hojas de *E. japonica* se han detectado los sesquiterpenos, y cuatro derivados glicosilados de herolidol, los triterpenos ácido maslínico, su éster metílico, el ácido tri – hidroxi – urs – 12 – en – 28 - oico, ácido ursólico y su derivado hidroxilado; y los flavonoides hiperósido y rutín[4]. En los retoños se han identificado los alcaloides guanidina y su derivado metílico. De la cáscara del fruto se han aislado el flavonoide loguatósido, y de la semilla, el bencenoide amigdalín.[16]

2.2.1.4. Usos farmacológicos

Una decocción de la planta evaluada en conejos a las dosis de 100 y 200 mg/kg por la vía intragástrica, mostró actividad hipoglicémica. Actividad detectada también con un extracto etanólico administrado en conejos por vía intragástrica, y con un extracto metanólico a la dosis de 40 mg/kg inyectado en ratones por la vía intraperitoneal. Se observó el

efecto hipoglicémico en adultos humanos tratados por la vía oral en la decocción de la planta a la dosis de 500 mg/persona.[8]

Extractos acuoso y etanólico mostraron actividad antiviral, aunque débil, frente al virus herpes simplex 2. En China se emplean contra los resfríos, dolor de garganta, antiinflamatorio, digestivo y astringente.[17]

2.2.1.5. Toxicidad

Castro K (2015) en su tesis intitulada características generales del níspero, estudio la actividad tóxica en conejos, administrándole extracto etanólico de hojas, al 95%, por vía oral en dosis de 200 mg/kg. Los resultados fueron negativos sin observarse signos de toxicidad. Por otra parte, una decocción administrada en adultos humanos por vía oral en dosis de 500 mg/persona no produjo signo de toxicidad.[13]

2.2.1.6. Terpenos

Los terpenos o terpenoides son un grupo de metabolitos más abundantes en los productos naturales sintetizados en las plantas, y a su vez se constituyen a partir del isopreno (2- metil- 1,3- butadieno) formados por unidades de 5 átomos de carbono o unidades de "isopreno", por lo que también se conocen como isoprenoides.[1,18, 19]

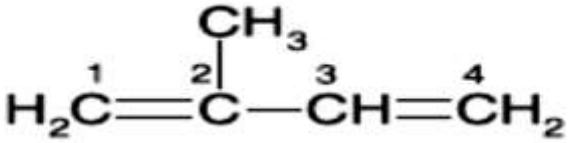


Figura N° 02: Isopreno (2-Metilbutadieno)
Fuente: Farmacognosia y Medicamentos Herbarios [Internet]. 2014.(citado 23 agosto 20019) disponible: Available from: http://saber.ucv.ve/handle/123456789/7611.[18]

2.2.1.7. Características generales de los terpenos[18, 19]

Dentro de las características que presentan los ácidos triterpénicos, se tiene que son:

- Compuestos volátiles de bajo y alto peso molecular.
- Compuestos poliméricos y heterocíclicos con sistemas mono, bi, tri y tetracíclicos.
- La mayoría de los terpenos son cíclicos.
- Tienen una solubilidad variable.
- Pueden encontrarse en forma libre o como glicósidos (saponinas).
- Compuestos de baja polaridad.
- Son liofilices debido a la cantidad de carbonos

2.2.1.8. Clasificación de los terpenos[18, 19]

Los terpenos se clasifican según su estructura química de acuerdo a la cantidad de moléculas de isopreno (2- metil- 1,3- butadieno) incluidos en su esqueleto hidrocarbonado, por lo que se clasifican de la siguiente manera:

Tabla N° 01: Clasificación de los terpenos.

Terpenos	Nº átomos de carbono	Nº subunidades de isopreno
Monoterpeno	10	2
Sesquiterpeno	15	3
Diterpeno	20	4
Triterpeno	30	6
Tetraterpeno	40	8
Politerpeno	>40	>8

Fuente: Farmacognosia y Medicamentos Herbarios [Internet]. 2014.(citado 23 agosto 20019) disponible: Available from: http://saber.ucv.ve/handle/123456789/7611..[18]

- **Monoterpenos y sequiterpenos:** Ampliamente distribuidos en los vegetales, y son los principales componentes de los aceites esenciales de las plantas. Este tipo de terpenos se encuentran presentes en pequeñas cantidades y son las responsables del olor característico de la planta, estos compuestos son generalmente volátiles y solubles en disolventes orgánicos y con muy baja densidad que pueden ser destilables.[18, 19]

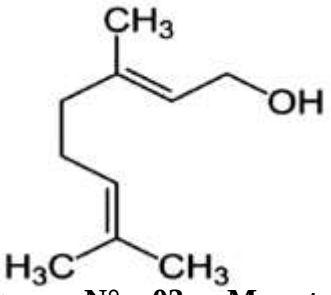


Figura N° 03: Monoterpeno acíclico regular (Geraniol)

Fuente: Farmacognosia y Medicamentos Herbarios [Internet]. 2014.(citado 23 agosto 20019) disponible: Available from: http://saber.ucv.ve/handle/123456789/7611.[18]

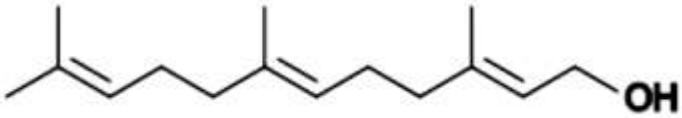


Figura N° 04: Sesquiterpeno farnesol (Flores de tilo)

Fuente: Farmacognosia y Medicamentos Herbarios [Internet]. 2014.(citado 23 agosto 20019) disponible: Available from: http://saber.ucv.ve/handle/123456789/7611.[18]

- **Diterpenos**. Se pueden encontrar en forma natural como polioxigenadas con grupos cetona e hidroxilo, abunda mayormente en las familias lamiaceae y asteraceae. Actualmente se conocen diferentes tipos, tales como: bicíclicos, tricíclicos, tetracíclicos, pentacíclicos y macrocíclicos; a su vez los diterpenos lipofílicos (ubicados en la capa de cera de la hoja entre el 30 - 50%. Como el fitol) y diterpenos polares (contienen grupos hidroxilos, epóxidos, carbonilos y carboxílicos, biológicamente muy activos).[18, 19]

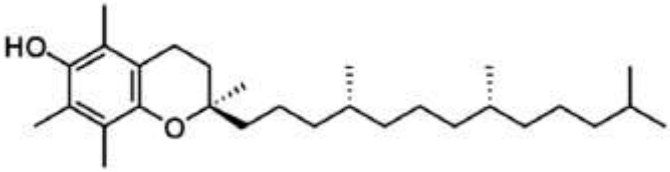


Figura N° 05: Diterpeno Vitamina K_1

Fuente: Farmacognosia y Medicamentos Herbarios [Internet]. 2014.(citado 23 agosto 20019) disponible: Available from: http://saber.ucv.ve/handle/123456789/7611.[18]

- **Triterpenos**

Son compuestos literalmente de amplia variedad en los diversos productos naturales, los cuales están formado por 30 átomos de carbono el cual presentan un esqueleto policíclico formado por condensación de 6 moléculas de isopreno. Los triterpenoides tienen una clasificación de tetracíclicos y pentacíclicas, donde los tetracíclicos son: oleandrina, euphol y cucubitacinas son esteroides metilados. Y las pentacíclicas son de mayor abundancia y se pueden clasificar como oleanos (ácido oleanólico, eritrodiol, β-amirina), ursanos (ácido ursólico, uvaol) y lupanos (ácido betulínico, betulina, lupeol). De este modo los esqueletos de oleanos y ursanos son los 2 grupos principales presentes en las plantas.[18, 19, 1]

Los metabolitos secundarios principales en el estudio, son los denominados triterpenoides pentacíclicos que tienen una acción generalmente protectora en las plantas por lo que; estos compuestos no están de forma libre en las plantas sino en forma de ésteres y glucósidos conjugados como las saponinas, los cuales tienen un efecto en su polaridad y solubilidad en el agua. Entonces los compuestos de baja polaridad se encuentran en forma libre o esterificada en los tallos, corteza, hojas, cascaras incluyéndolos de esta forma a las frutas y hojas comestibles.[19]

De esta manera de los 50.000 triterpenoides pentacíclicos que existen los más conocidos y estudiados son los ácidos oleanólico (3b hydroxiolean-12-en-28-oico) y ursólico (3-hidroxi-urs-12-en-

28-oico), que se encuentran presentes en las hojas de *E. japonica* los cuales son los responsables de la actividad terapéutica que se le atribuye a la planta.[19]

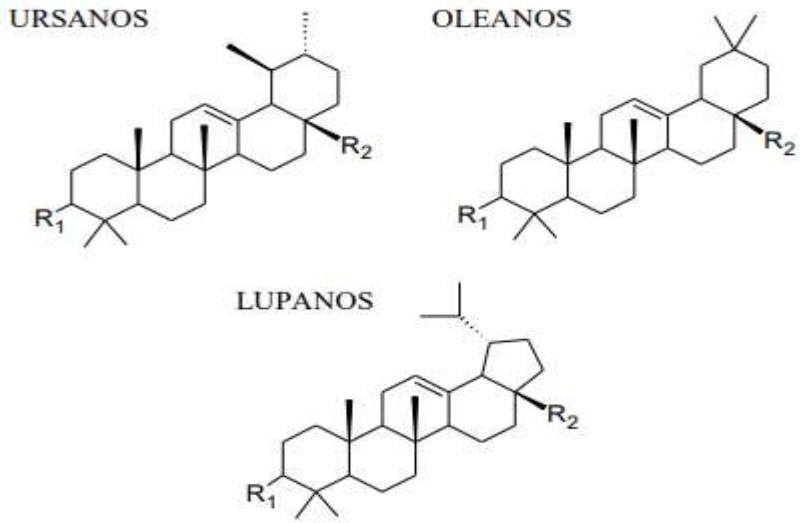


Figura Nº 06: estructuras generales de los triterpenoides pentacíclicos

Fuente: Erika V. Actividades Biológicas de Extractos de Plantas y de sus Combinaciones. [Tesis Doctoral] Madrid: Universidad Autónoma de Madrid; España 2015.[19]

Entre los compuestos comúnmente estudiados se encuentran los triterpenos de estructura de ursanos y oleanos, lo cuales destacan el ácido ursólico y ácido oleanólico con estructuras pentacíclicas presentes en las hojas de la planta, debido a que son isómeros y con muy buena capacidad terapéutica.[1, 20]

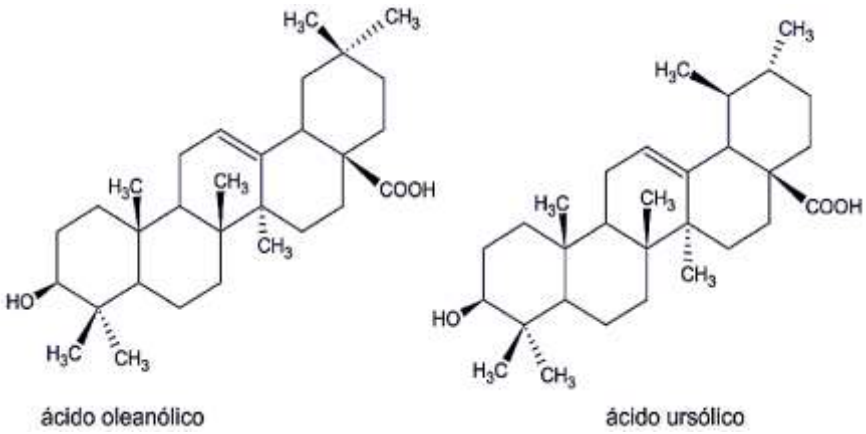


Figura Nº 07: Estructuras del ácido oleanólico y ursólico ($C_{30}H_{48}O_3$)
Fuente: Carlos A, Erik R. Cuantificación de ácidos oleanólico, ursólico y rosmarínico en tres especies de Clinopodium. Rev ArnaldoA [Revista en Internet] 2016: 23 (1): 333 – 350.[20]

- **Química, reactividad y solubilidad de los ácidos triterpénicos**

Los ácidos triterpénicos debido a su estructura pentacíclicas y a la cantidad de átomos de carbono son moléculas de gran peso molecular y de muy baja solubilidad, lo cual hace que sea limitada su extracción en medios acuosos. Por ende, hace que su extracción se vea favorecido en solventes orgánicos como: diclorometano, éter y etanol debido a la facilidad que tienen los disolventes de dispersarse y reaccionar de carbono a carbono.[1,19]

Debido a la baja solubilidad que tiene los ácidos triterpénicos (ursólico, oleanólico) se viene estudiando modificaciones en su estructura sobre los grupos funcionales que existen en el C-3 (hidroxilo) y C-28 (carboxilo) y un doble enlace del C-12 al C-13; estas modificaciones se están realizando para mejorar la solubilidad y potenciar los efectos terapéuticos y obtener derivados con gran

potencial farmacológico. Estas modificaciones también favorecen para mejorar su solubilidad en solventes acuosos.[1]

La solubilidad es una propiedad más importante, donde se puede observar que mientras más semejantes sean los componentes (soluto, solvente) mejor solución se obtendrá, esta semejanza es debido a la estructura química, polaridad y las interacciones intermoleculares; eh allí el dicho que describe "sustancias parecidas se disuelven entre sí". Por lo tanto, los solventes que se usó en nuestro estudio fueron de carácter polar y el soluto de carácter apolar, donde el agua es un solvente que tiene una elevada solubilidad y la facilidad de formar puentes de hidrógeno e interaccionar del tipo ion-dipolo con los átomos de oxígeno presentes en la estructura. Por otro lado, el alcohol (C_2H_5OH) solvente usado para extraer metabolitos de solutos apolares, tiende a formar enlaces de C a C que vienen hacer los enlaces covalentes y la formación de puentes de hidrógeno.[21]

2.2.1.9. Identificación y cuantificación de ácidos triterpénicos

- **Método de identificación de ácidos triterpénicos.[20, 21]**

Para la identificación de ácidos triterpénicos, se utilizó el método colorimétrico de Liebermann – Burchard, cuyo fundamento del cambio de color (de rojo verde claro a rojo verdoso muy oscuro) es debido a la reacción de oxidación del ácido acético y ácido sulfúrico con el grupo hidroxilo (-OH) del ácido triterpénico, formando una molécula con un doble enlace adicional y el aumento de la

conjugación de la instauración en el anillo fusionado adyacente. Por tanto, en la etapa inicial de esta prueba ocurre la protonación del grupo OH del ácido triterpénicos, ocurriendo una pérdida de agua y ganando el ion carbonio que constituye para la formación del color (compuesto formado: **tetradienilcatión**). Para lo cual, se realiza de la siguiente manera:

- En un tubo de ensayo se colocan 0,011 mL del principio activo agregando 10 gotas de anhídrido acético ($(CH_3CO)_2O$) y 2 gotas de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado, luego se homogeniza cuidadosamente hasta el cambio del color rojo verdoso.

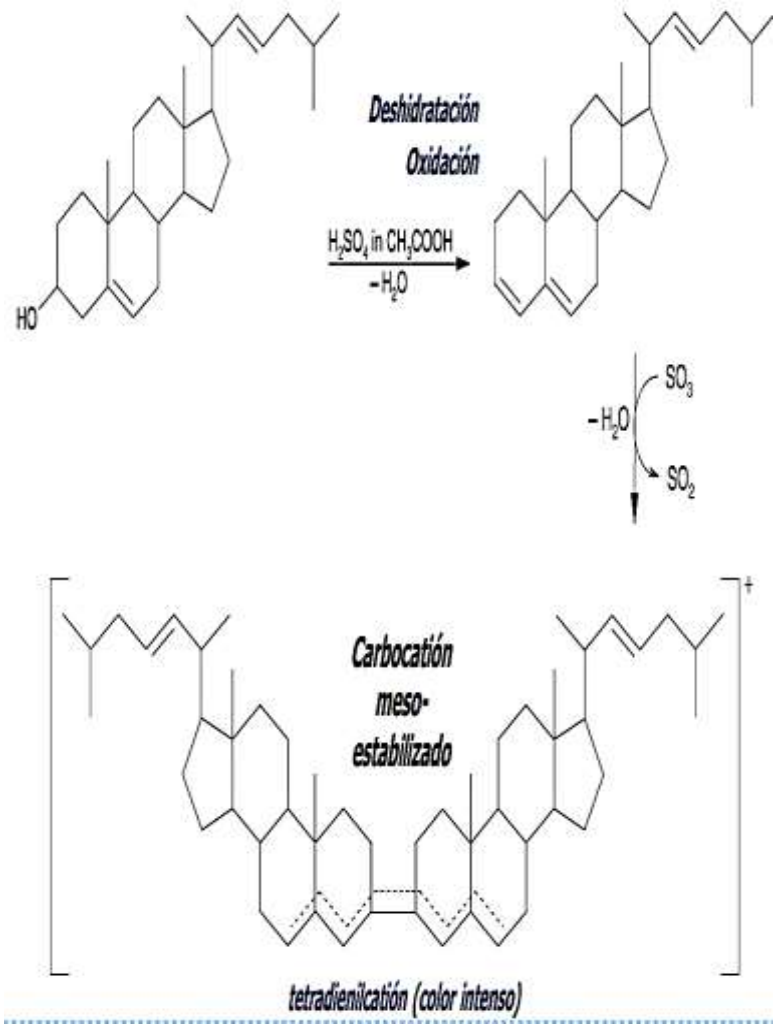


Figura Nº 08: reacción de Libermann-Burchard

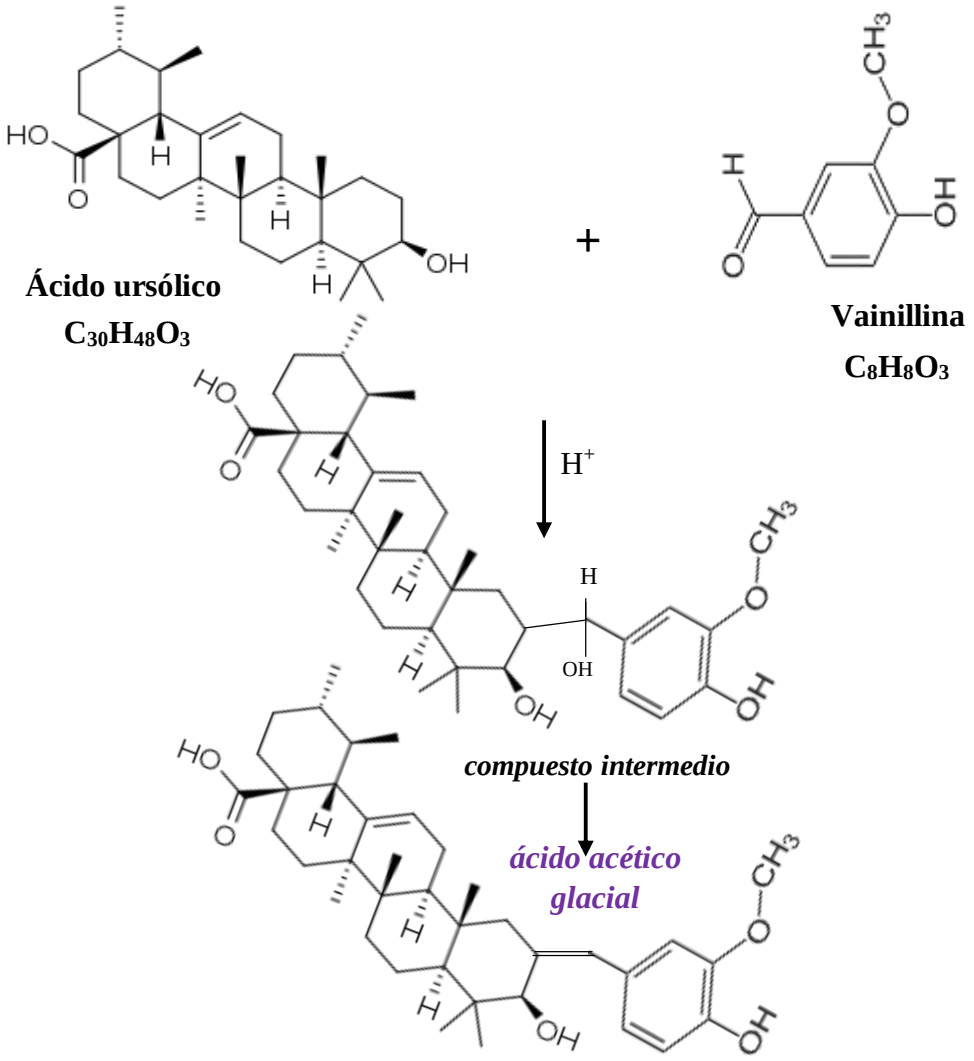
Fuente: Lassny O, Andrea S. Estudio fitoquímicos de la especie vegetal Bucquetia glutinosa (L. f.) (melastomataceae) y evolución de su actividad biológica. [Tesis de Grado] Bogotá D. c.: Universidad de Ciencias y Aplicadas; Colombia. 2018.[22]

- **Método de cuantificación por espectrofotometría.[23]**

Mide la cantidad de intensidad de luz absorbida después de pasar a través de una solución muestra en función a la longitud de onda, que se basa en la relación que existe entre la absorción de luz por parte de un compuesto y su concentración. Cuando se hace incidir luz monocromática sobre un medio homogéneo, una parte de la luz incidente es absorbida por el medio y otra transmitida. La

componente eléctrica de la radiación es la responsable de la mayoría de los fenómenos que interesan como la transmisión, la reflexión, la refracción y la absorción.

Los ácidos triterpénicos son compuestos con estructura compleja y esqueleto carbonado, es por eso no se evidencia una reacción específica, pero se postula a una presunta reacción con un producto intermedio (olefínico) y un producto final coloreado. Donde al usar el indicador de solución vainillina al 5% en ácido acético glacial nos ayuda a cuantificar los ácidos triterpénicos reaccionando en un medio acido (ácido perclórico) mediante una protonación de una molécula de hidrogeno (H^+) con una aparición de color amarillo, que al elevar la temperatura vira a un color rojo oscuro, y al cambio de temperatura (baño de hielo) y agregando ácido acético glacial reacciona mediante deshidratación por condensación, fácilmente para virar a un color rosa ligero-oscuro, donde la estabilidad del color del complejo vainillina – ácido triterpénicos puede aumentar cuando la luz es excluida y la temperatura de reacción es controlada entonces se obtiene resultados reproducibles y exactos.[24, 25]



Producto de deshidratación de color rosa ligero - intenso

Figura Nº 09: reacción de vainillina con ácido ursólico en medio ácido.

Fuente: Karla C., Brenda R. ANALISIS FITOQUIMICO PRELIMINAR DE LOS EXTRACTOS ORGANICOS DE Maytenus segoviarum, Quetzalia reynae Y Zinowiewia integerrima DE LA FAMILIA CELASTRACEAE PERTENECIENTES A LA FLORA SALVADOREÑA [Tesis de grado]. San Salvador: Universidad de el Salvador Facultad de Química y Farmacia; El Salvador Centro América. 2017.[24]

Carlos C., Jorge P., Luis C. Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie raputia heptaphylla (rutaceae). Rev. Elementos [revista en internet]. 2014; (4), 31 - 39[25]

Procedimiento, se toma 10 mg de residuo del principio activo y se disuelve en 25 mL de metanol. Se transfirió un volumen de 0,2 mL de solución a las muestras preparadas en 5 tubos de ensayo, por cada muestra, para luego evaporar a sequedad en baño maría a 60ºC.

A continuación, se añade un volumen de 0,3 mL de la solución preparada de vainillina al 5% en acético glacial y 1 mL de solución de ácido perclórico, el que se va a observar el cambio de color a amarillo. Las soluciones de las muestras se calientan a 60 ºC durante 45 min y se enfría en baño de agua con hielo a temperatura ambiente visualizando una coloración de amarillo a rojo oscuro.

Finalmente se añade un volumen de 5 mL de ácido acético glacial el que se obtiene un color rosado claro. La absorbancia de las muestras se mide a la misma absorbancia del estándar de 548 nm.

El proceso de lectura de absorbancia se realiza por 5 veces cada solución de la muestra preparada.[23]

III. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

3.1. Unidad de análisis, universo y muestra

3.1.1. Unidad de análisis

Extracto etanólico e infusión preparado de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero).

3.1.2. Universo

Hojas de Eriobotrya japonica (níspero), procedente del distrito, provincia, y región de Cajamarca.

3.1.3. Muestra

- **Muestra Vegetal**

  Se utilizó 5 kg de hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero), procedentes del distrito, provincia y región Cajamarca, para obtener el extracto acuoso y la infusión.

  Para la selección de la muestra, se tuvo en cuenta los siguientes criterios:

  a. **Criterio de inclusión:** Fueron todas las hojas libres de enfermedades, exentos de microorganismos y en buenas condiciones.

  b. **Criterio de exclusión:** son todas las hojas con indicios de enfermedades, de microorganismos y maltratadas.

3.2. Método de investigación

3.2.1. De acuerdo al fin que se persigue

Básica, ya que estuvo encaminada a ampliar el conocimiento científico, explorando más y nuevas teorías para transformar las ya existentes.[16]

3.2.2. De acuerdo con el objetivo de estudio

Correlacional, porque buscó similitudes y comparaciones de concentración de ácidos triterpénicos que sirvieran para la verificación de la hipótesis con el objetivo de encontrar semejanzas y/o diferencias con el propósito de explicar, responder los resultados encontrados.[16]

3.2.3. Técnicas de investigación

a. Obtención y preparación de la muestra vegetal

- **Recolección y selección de la muestra vegetal:**

  Las hojas verdes de *Eriobotrya japonica* (níspero) se recolectaron (aproximadamente 5 kg) directamente de la planta dentro del valle de Cajamarca, y se colocaron en un depósito de cartón, luego se seleccionaron según los criterios de inclusión y exclusión. A continuación, se rotularon y trasladaron al laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, procediendo a la limpieza de las hojas.

- **Limpieza de la muestra**

  Las hojas verdes se sometieron a un procedimiento de limpieza, utilizando hipoclorito de sodio al 0,5% de un producto comercial llamado "Clorox" (cuya concentración es de 4%). Se utilizó la cantidad de 125 mL de hipoclorito de sodio de dicho producto para la solución respectiva.

- **Secado**

  Para el secado se dispuso a temperatura ambiente colocándose en un lugar ventilado y bajo sombra, colgadas en manojos con los extremos de los tallos hacia abajo, considerando aproximadamente un tiempo prudente de 15 días.

- **Pulverización de la muestra**

  Las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero) fueron trituradas hasta hacerse polvo.

  Para realizar la pulverización se utilizaron dos morteros, que a través del pilón se forzaron mecánicamente sobre las hojas hasta obtener polvo lo cual permite aumentar la superficie de contacto con el solvente.

b. Preparación y obtención del extracto:[10, 27]

- Para el extracto etanólico se pesó 100 g de polvo de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero), y se agregó 500 mL de etanol a 70ºC, dejando reposar 3 días con la ayuda del agitador magnético. Luego se filtró mediante un apósito estéril para obtener el extracto

etanólico purificado a un porcentaje del 20%; y a continuación se procedió a separar el solvente y concentrar mediante el equipo de rota vapor.

- Preparación de la infusión: se pesó 40 g de polvo de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero) y se agregó a 1000 mL de agua destilada a 90ºC, dejando reposar 20 minutos para obtener los metabolitos secundarios, luego se procedió a filtrar usando apósito estéril para obtener la infusión purificada,[8] a una concentración del 4 %.

Para calcular la concentración de la muestra del extracto etanólico se añadió 1 mL en la luna de reloj llevando a sequedad en la estufa por un lapso de 24 horas a una temperatura de 40ºC, donde se obtuvo una concentración de 0,09 g/mL.

De la misma forma se halló la concentración de la infusión añadiéndose 5 mL en la cápsula de porcelana llevando a sequedad en la estufa a una temperatura de 40 ºC por 1 día, obteniendo la concentración de 0,04 g/5 mL, luego mediante cálculo se obtiene la equivalencia de 0,008g/mL.

c. Identificación de ácidos triterpénicos

Para la identificación de ácidos triterpénicos del extracto etanólico y la infusión de las hojas de *Eriobotrya japonica*, se utilizó el ensayo de Liebermann – Burchard, para lo cual, se procedió de la siguiente manera:

- En un tubo de ensayo de colocó 0,011 mL del extracto etanólico agregando 10 gotas de anhídrido acético ($(CH_3CO)_2O$) y 2 gotas de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado y se homogenizó cuidadosamente obteniendo al instante una coloración rojo verdosa.

- En un tubo de ensayo se colocó 0,125 mL de infusión agregando 10 gotas de anhídrido acético ($(CH_3CO)_2O$) y 2 gotas de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado homogenizándose cuidadosamente obteniendo al instante una coloración rojo verdosa clara.

d. Cuantificación de ácidos triterpénicos

- Preparación del estándar.
  - La solución estándar de ácido ursólico se preparó disolviendo 10 mg de ácido ursólico en 100 mL de metanol (concentración final de 100 µg/mL).
  - Luego se preparó 5 diluciones con concentraciones de: 5; 10; 15; 20 y 25 µg/mL para lo cual se midió de la solución estándar 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 y 0,25 mL. Cada dilución se lleva a evaporar hasta sequedad utilizando el baño maría a una temperatura de 60ºC por un tiempo de 1 hora.

- Después de la evaporación a sequedad se agregó 0,3 mL de solución de vainillina al 5 % en ácido acético glacial y 1 mL de ácido perclórico observándose un color amarillo.
- Luego se llevó a una temperatura de 60ºC por 45 minutos visualizando el color amarillo rojizo; de manera que se procedió a enfriar en baño de agua con hielo.
- Finalmente se agregó 5 mL de ácido acético glacial dando como resultado un color rosado claro a intenso. Luego cada dilución fue leída en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 548 nm y con los resultados de absorbancia obtenidos se construyó la curva de calibración del estándar y se obtuvo la formula y el R^2.

  El R^2 llamado también coeficiente de determinación que tiene como función principal predecir el resultado de la hipótesis, por ende, este resultado puede variar entre 0 y 1; lo que significa que mientras más cerca esté del 1 estará más ajustada a la variable que se intenta probar, sucede lo contrario con el otro valor; cuanto más se acerque al 0 menos fiable será la variable porque estará menos ajustada al modelo. El R^2 en estadística es usado en el contexto de un modelo estadístico cuyo propósito principal es predecir futuros resultados o probar una hipótesis con un coeficiente que determina la calidad del modelo para replicar los

resultados y la proporción de la variación de los mismos que puede explicarse por dicho modelo.

Tabla 2: Preparación de 5 soluciones a partir del estándar para la elaboración de la curva patrón.

Nº de tubos	Concentración de la solución patrón (100 µg/mL)	mL de la solución madre (100 mL)
1	5 µg/mL	0,05 mL
2	10 µg/mL	0,1 mL
3	15 µg/mL	0,15 mL
4	20µg/mL	0,20 mL
5	25 µg/mL	0,25 mL

Fuente: Gupta A, Maheta P, Chauhan R, Pandey S, Yadav JS, Shah S. Simultaneous quantification of bioactive triterpene acids (ursolic acid and oleanolic acid) in different extracts of Eucalyptus globulus (L) by HPTLC Method. Rev. Pharmacognosy J. [Revista en Internet] 2018;10 (1):179 - 85.[23]

- Método por espectrofotometría (preparación de la muestra).

  Por lo tanto; para continuar con el desarrollo del método se obtiene la relación peso/volumen.

  - Se tomó 10 mg de residuo de cada uno de los preparados (infusión/extracto etanólico) y se disolvió en 25 mL de metanol.
  - Se transfirió un volumen de 0,2 mL de solución de las muestras preparadas en 5 tubos de ensayo graduado por cada muestra y se evaporó a sequedad en baño maría a 60ºC.

- Luego se añadió un volumen de 0,3 mL de la solución preparada de vainillina al 5% en acético glacial y 1 mL de solución de ácido perclórico, observándose un color amarillo.
- Las soluciones de las muestras se calentaron a 60ºC durante 45 min y se enfriaron en baño de agua con hielo, visualizando una coloración de amarillo a rojo oscuro.
- Finalmente se añadió un volumen de 5 mL de ácido acético glacial obteniendo un color rosado claro. Las muestras se midieron a la misma absorbancia del estándar de 548 nm.
- El proceso se realizó por 5 veces con cada solución de la muestra preparada, con el fin de disminuir el margen de error.
- Para calcular los triterpenoides totales se aplicó la fórmula obtenida en la curva de calibración.

$$Y = 0{,}0399x + 0{,}031$$

$$R^2 = 0{,}9805$$

- Este procedimiento se repitió con el extracto etanólico/infusión de las hojas de níspero para comparar los triterpenoides totales.

3.2.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos

Instrumentos

- Microsoft Excel.
- SSPS (Statistical Package for the Social Sciences).

Equipos

- Estufa: Memmert UNB 400
- Balanza analítica Ohaus modelo Explorer.
- Baño María
- Rota vapor
- Espectrofotómetro

Material

Materiales de vidrio y otros de uso común en el laboratorio de investigación.

Reactivos

- Anhídrido acético ($(CH_3CO)_2O$)
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4)
- Metanol.
- Vainillina.
- Ácido perclórico.
- Ácido acético glacial

Otras sustancias

- Etanol 70°
- Agua destilada

Materiales de oficina y escritorio:

- 1 Millar de papel bond A4 de 80g
- 2 Lapiceros Pilot 0,7
- 2 Portaminas 0,5

- 2 Libreta de apuntes
- 4 Plumones de proyección Faber - Castell
- 4 Plumones permanentes Faber - Castell
- 2 Correctores Pentel
- 4 Plumones resaltadores
- 4 Portaminas Faber - Castell 0.5
- 6 Folders Manila A4
- 01 Tinta de impresora HP

3.3. Técnicas de análisis de datos

Para el análisis de las comparaciones estadísticas se utilizó el programa Excel, para determinar el promedio realizando una comparación de los valores obtenidos del extracto etanólico/infusión, a través del test T de student.

Se consideró la siguiente escala del valor de p:

- Si $p > 0,05$ la diferencia no es significativa
- Si $p \leq 0,05$ la diferencia es significativa
- Si $p \leq 0,01$ la diferencia es muy significativa
- Si $p \leq 0,001$ la diferencia es altamente significativa

3.4. Aspectos éticos de la investigación

Se tuvo en cuenta el cuidado del ambiente, y destreza en la recolección de la muestra vegetal necesarios para no afectar el hábitat natural de la especie *Eriobotrya japonica* (níspero), en concordancia con el inciso 3.1, 3.2 del

artículo 3° de la Ley N° 27308, Ley Forestal y de Fauna Silvestre (Norma actualizada al 03 de agosto del 2010), cuyo contenido dice: “3.1. El Estado promueve el manejo de los recursos forestales y de fauna silvestre en el territorio nacional, como elemento fundamental para garantizar su desarrollo sostenible, con la activa participación de los sectores sociales y económicos del país”, “3.2. El Estado fomenta la conciencia nacional sobre el manejo responsable de las cuencas, bosques y fauna silvestre y realiza acciones de prevención y recuperación ambiental”. La Ley tiene por objeto normar, regular y supervisar el uso sostenible y la conservación de los recursos forestales y de fauna silvestre del país, compatibilizando su aprovechamiento con la valorización progresiva de los servicios ambientales del bosque, en armonía con el interés social, económico y ambiental de la Nación.[26]

IV. RESULTADOS

Tabla 3: preparación de la curva de calibración.

CONCENTRACION µg/mL	ABSORBANCIA (nm)
5 µg/mL	0,068
10 µg/mL	0,11
15 µg/mL	0,161
20 µg/mL	0,184

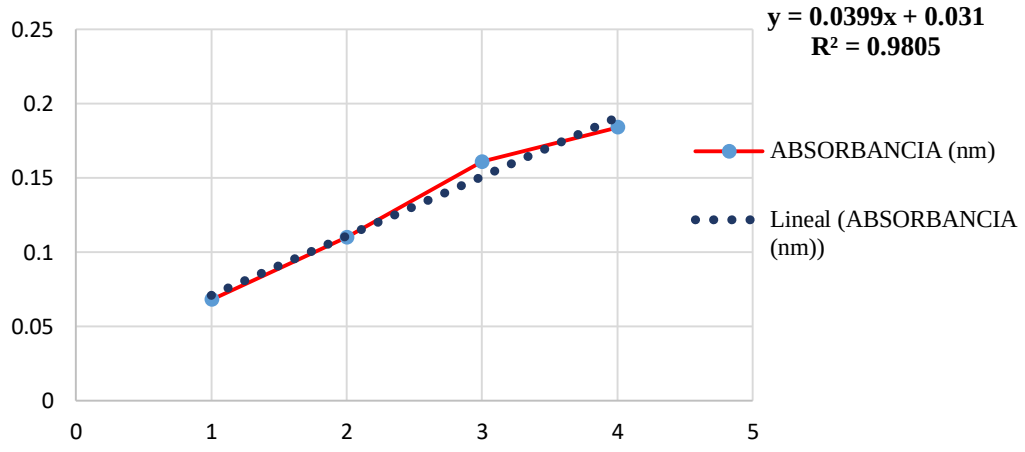


Grafico 1: Elaboración de la curva patrón a partir de las soluciones del estándar (ácido ursólico)

Interpretación: En la tabla 3 y grafico 1 muestra la concentración del ácido ursólico con relación a una concentración lineal.

Tabla 4: Identificación de ácidos triterpénicos en hojas de *Eriobotrya japonica*

	Ácidos triterpénicos
Extracto etanólico de hojas	++
Infusión de hojas	+

Leyenda:

Muy abundante	++++	(Color rojo verdoso oscuro)
Abundante	+++	(Color rojo verdoso parcialmente oscuro)
Regular	++	(Color rojo verdoso)
Bajo	+	(Color rojo verdoso claro)
Ausente	-	(sin color rojo verdoso)

Interpretación: Se observa la identificación de ácidos triterpénicos en hojas de *Eriobotrya japonica*, utilizando el número de cruces según la intensidad del color. De manera que se aprecian dos cruces (color rojo verdoso) para el extracto etanólico; y una cruz (color rojo verdoso claro) para la infusión.

Tabla 5: Comparación de valores de concentración obtenidos para cada uno de los cinco ensayos realizados a la muestra de extracto etanólico e infusión.

ENSAYO	Muestra	Concentración	Absorbancia
1	**Extracto etanólico**	20,25 µg	0,193
2		21 µg	0,199
3		19,875 µg	0,190
4		14.25 µg	0,145
5		17 µg	0,167
1	**Infusión**	**5,625 µg**	**0,076**
2		**4,625 µg**	**0,068**
3		**3,375 µg**	**0,058**
4		**5,25 µg**	**0,073**
5		**4,625 µg**	**0,068**

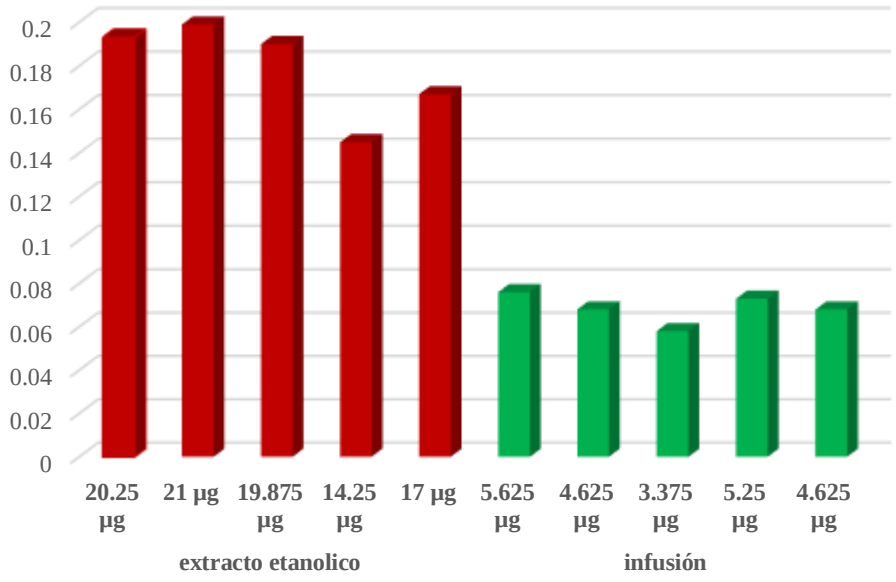


Gráfico 02: Comparación de las concentraciones del extracto etanólico frente a la infusión en hojas de *Eriobotrya japonica* "níspero"

Interpretación tabla 5 y gráfico 2: Se observa la comparación de ambas concentraciones de ácidos triterpénicos en extracto etanólico e infusión en hojas de *Eriobotrya japonica*; apreciando mayores valores en todos los casos correspondientes al extracto etanólico existiendo una relación indirecta frente a la infusión.

Tabla 6: Promedio de la concentración de ácidos triterpénicos del extracto etanólico frente a la infusión.

Muestras	Concentración (µg)
Promedio extracto etanólico	18.475 µg
Promedio infusión	4.7 µg

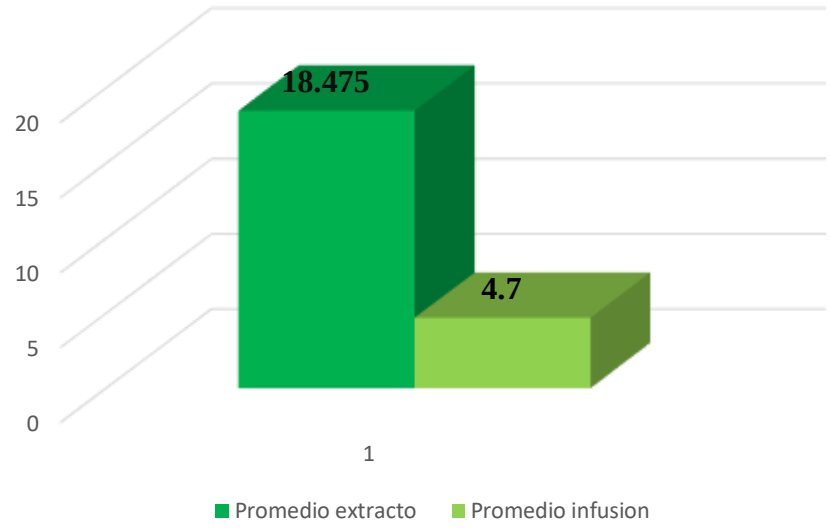


Grafico 03: Comparación del promedio de las concentraciones de ácidos triterpénicos del extracto etanólico frente a la infusión en hojas *Eriobotrya japonica.*

Interpretación: En la tabla 6 se puede observar el promedio de concentración de ácidos triterpénicos del extracto etanólico frente a la infusión de hojas de *Eriobotrya japonica* "níspero", existiendo una relación indirecta de la concentración de ácidos triterpénicos, en mayor cantidad para el extracto etanólico frente a la infusión, donde el grafico 03 nos muestra que existe una concentración del 18,475 y 4,7 microgramos de ácidos triterpénicos (extracto/infusión).

Tabla 7: Resultado estadísticos de la prueba T - student para las muestras del extracto etanólico y de la infusión.

Prueba de muestras relacionadas									
		Diferencias relacionadas					T	Gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	Extracto Infusión	13,77100	3,14726	1,40750	9,86316	17,67884	9,784	4	0,001

Interpretación: Se muestra el valor de *p* de 0,001 de significancia para la comparación de la cantidad de ácidos triterpénicos entre el extracto etanólico y la infusión de hojas de *Eriobotrya japonica* "níspero", existiendo una alta significancia en ambas concentraciones.

PROPUESTA

Uso de las hojas de *Eriobotrya japonica* en la población para el tratamiento complementario de algunas enfermedades, debido a la concentración de ácidos triterpénicos.

Objetivos:

- Plantear el uso de las hojas de *Eriobotrya japonica* en la población para el tratamiento complementario de algunas enfermedades, debido a la concentración de ácidos triterpénicos.

Metodología: Debido a la gran importancia y su consumo en diferentes países, el níspero posee beneficios significativos para la salud, por eso se propone el uso de una parte de la planta (hojas) del árbol de *Eriobotrya japonica* (níspero) por su gran composición fitoquímica de metabolitos secundarios (ácidos triterpénicos) señalados en la investigación realizada por los egresados de la Universidad Antonio Guillermo Urrelo, donde se demuestra que el árbol de níspero cultivada en el Perú región Cajamarca tienen los mismos metabolitos secundarios de ácidos triterpénicos tan igual que la de otros países.

Por tanto, se realizó una búsqueda exhaustiva de referencias concernientes a la evaluación química de las hojas de la planta de *Eriobotrya japonica*, y la extracción de ácidos triterpénicos con diferentes solventes en las principales bases científicas: Google académico, PudMed, Redalyc, Latin Index, Science Direct, Springer Link, entre otros indicadores disponibles en las bases cibernéticas. Donde la información revisada (promedio 15 estudios) se encuentra en el intervalo desde el 2007 hasta 2019. Del mismo modo cabe mencionar que algunos datos se recopilaron de manera empírica a partir de blog de notas, revistas, tesis y videos de YouTube.

Resultados:

Tabla 08: Formas de utilización de la planta de *Eriobotrya japonica*

Nombre científico	Parte utilizada de la planta	Formas de utilización
Eriobotrya japonica	Hojas, flores	Infusión (te)
		Decocción
		Tisana
		Extracto

Fuente: recopilación de las diferentes bases de datos.

Tabla 09: Metabolitos secundarios presentes en la parte vegetal (hojas, flores) de la planta de *Eriobotrya japonica.*

Nombre científico	Parte estudiada	Ácidos triterpénicos
Eriobotrya japonica	Hoja y flores	Ácido ursólico
		Ácido oleanólico
		Ácido corosólico
		Ácido maslínico

Fuente: recopilación de diferentes bases de datos

Tabla 10: Efectos farmacológicos que se le atribuye a la planta (hojas y flores) de *Eriobotrya japonica.*

Nombre científico	Partes utilizadas	Actividad farmacológica
		Hipoglucemiante
		Hipolipidémica
Eriobotrya japonica	Hojas y flores	Antiinflamatorio, antiviral
		Digestivo y astringent

Fuente: recopilación de datos

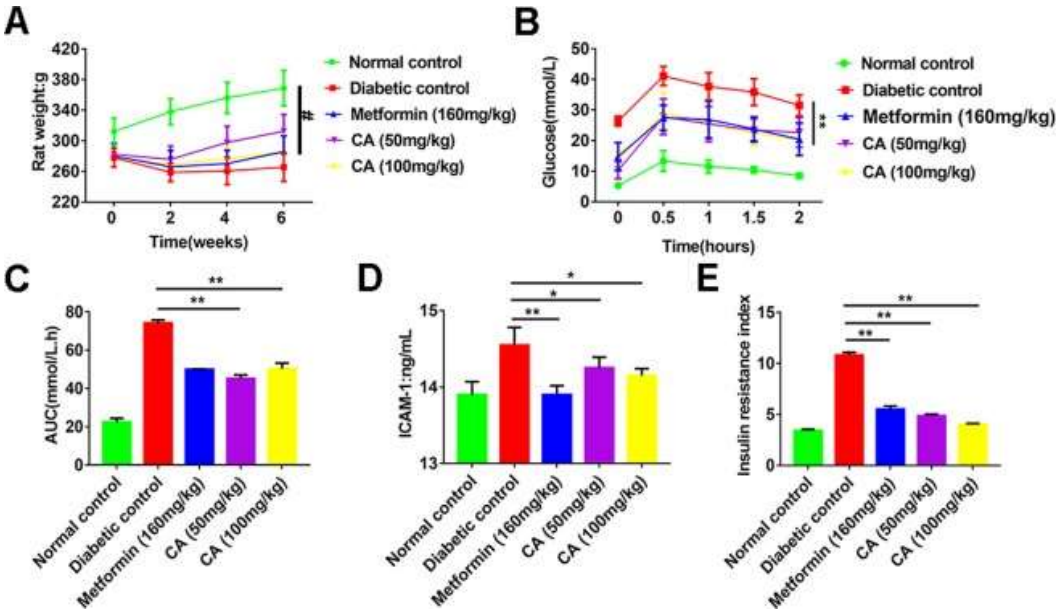


Grafico 04: Muestra que el ácido corosólico (CA) regula la glucosa, el metabolismo de los lípidos y la resistencia a la insulina en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina.

Fuente: Xu S, Wang G, Peng W, Xu Y, Zhang Y, Ge Y, Jing Y, y Gong Z. Corosolic acid isolated from Eriobotrya japonica leaves reduces glucose level in human hepatocellular carcinoma cells, zebrafish and rats. Scientific Reports. [Revista en internet]. 2019; 9(1), 4388: 1 – 13.[27]

Figura 10: Influencia de las hojas de *Eriobotrya japonica* en el nivel de glucosa en sangre en ratones diabéticos inducidos con aloxano.

Group	Dose, (Crude Drug, g/kg)	Number of Mice	Blood Glucose (mg/dl)	
			Before Administering	After Administering
Normal	—	10	128.4 ± 30.0	119.9 ± 19.7
Model	—	10	439.3 ± 110.4^{++}	411.5 ± 110.9
EJA-0	15	10	428.3 ± 112.0^{++}	315.1 ± 72.4*
	30	10	431.1 ± 105.9^{++}	272.6 ± 60.4**
	60	10	430.3 ± 85.9^{++}	314.5 ± 69.4**
Phenformin	100 mg/kg	10	413.3 ± 133.1^{++}	277.6 ± 115.4**

Fuente: ILu W, Wu J, Ren B, Chen J, Lu C. Pharmacological studies on anti - hyperglycemic effect of the leaves of Eriobotrya japonica. Rev. Phytomedicine. [Revista en Internet]. 2008; 31 (9): 1351 - 1354.[7]

Por todo lo antes mencionado, se propone el uso de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero) por su concentración de ácidos triterpénicos presentes en el extracto etanólico e infusión, donde se sustenta el uso tradicional a partir de estudios revisados en la base científica, o bien a través de los compuestos químicos de las hojas de níspero con actividad terapéutica. Sobre este último punto se revelan los compuestos químicos responsables de esta acción, que vienen hacer los ácidos triterpénicos con actividad comprobada a partir de su identificación y aislamiento de las mismas hojas de la planta.

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación tuvo como finalidad comparar la concentración de ácidos triterpénicos entre el extracto etanólico y la infusión de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero), esto debido a la escasa información científica que existe en nuestro país sobre la extracción y concentración de ácidos triterpénicos, lo cual se optó por ensayo cualitativo (Libermann - Burchard) y cuantitativo (espectrofotometría) donde comparamos las concentraciones de los 2 preparados.

Los resultados obtenidos en el estudio sobre la concentración de ácidos triterpénicos de las hojas de *E. japonica* (níspero) cultivadas en la región Cajamarca muestran la presencia de estos ácidos los cuales tienen un gran potencial terapéutico para la salud humana. Para determinar la concentración nos apoyamos con absorbancia de 548 nm; tanto para el estándar (ácido ursólico) como para las muestras, donde se muestra la curva de calibración con un R^2 de 0.98 con una pureza del 95 % para el estándar y siendo una diferencia altamente significativa con el valor de *p* de 0.001 para las muestras con respecto al ácido ursólico.

En la tabla 04 la identificación de ácidos triterpénicos mediante el ensayo de Libermann - Burchard arrojó resultados positivos; donde muestra dos cruces para el extracto etanólico y una cruz para la infusión esto debido a la reacción colorimétrica que se realiza en un medio fuertemente ácido. Esta reacción sucede cuando el esterol se oxida por la presencia de ácido sulfúrico que forma una molécula que contiene un doble enlace adicional. Dado que en la etapa inicial de la prueba ocurre la protonación de grupo OH, habiendo perdido agua y obteniéndose el ion carbonio que constituye la primera parte para la formación del color.[22,27]

Resultados similares a obtenido **Ilu** y otros (**2007**), quien determinó contenido de estos ácidos en hojas; por otro lado **Ibarra** (**2009**), menciona que las hojas del níspero contiene alcaloides y sustancias terpénicas encontradas a través de la cromatografía; otro resultado similar se tiene con **Lü** y otros (**2009**), quienes demostraron aislar cierta cantidad de sesquiterpenos en un concentración de 100mg/mL extraídos de 5 kg de polvo de las hojas de níspero.

En la tabla 05 y gráfico 2 se comparó la concentración de ácidos triterpénicos obtenidos en el extracto etanólico e infusión obteniendo mayor concentración el extracto etanólico que la infusión, donde puede ser corroborado con **Ibarra (2009)**, quien realizó la comparación de extracto acuoso, etanólico, hexánico e infusión de las hojas de níspero, observando que los extractos con solventes orgánicos tienen mayor concentración de ácidos triterpénicos que son moléculas pentacíclicas de 30 carbonos difíciles de extraer con solventes inorgánicos, debido a la polaridad del soluto y solvente donde lo semejante extrae a lo semejante de acuerdo a la estructura química que posee cada sustancia.[12, 13, 21]

Con respecto a la cuantificación de ácidos triterpénicos, los valores de concentración obtenidos para cada uno de los ensayos realizados a las muestras de extracto etanólico e infusión (tabla 05), se observa que existe una relación directa de la concentración de ácidos triterpénicos, porque el alcohol extrae mejor debido a que son semejantes y a la polaridad en su estructura con esqueletos de carbono, donde coincide con **Siani AC et al (2014)**[3] que demuestra que el alcohol es mejor solvente para la extracción de ácidos triterpénicos por la formación de enlaces de carbono y puentes de hidrógeno. Por otro lado, los valores promedios de la concentración de ácidos triterpénicos obtenidos para el extracto etanólico y la

infusión de la hoja de níspero tiene una variedad de ácidos triterpénicos: ácido ursólico, corosólico, oleanólico, maslínico; entre otros. Pero los ácidos con mayor presencia química y mucho más estudiados en el ámbito de la ciencia con fines terapéuticos son ácido ursólico y ácido oleanólico[29], debido a que predominan mejor y casi siempre ambos están presentes debido a que comparten una estructura química similar denominado isómeros conteniendo un grupo OH, un grupo COOH y un esqueleto de base pentacíclica[1, 28], este resultado concuerda con **Ilu** y otros (**2007**), y **Castro** (**2015**), quienes realizaron una comparación de contenidos de ácidos triterpénicos mostrando que predominaba más en extracto etanólico que en infusión, debido a que el agua solo puede formar puentes de hidrógeno entre el oxígeno e hidrógeno y por la baja polaridad que tiene el soluto[12, 13] donde **Bing-Xin T et al (2017)** muestra la importancia del solvente para extraer mejor concentración de ácidos triterpénicos. Así mismo en nuestro estudio realizado a las hojas de níspero de la región se evidencia en el grafio 3 una importante concentración de ácidos triterpénicos, obteniendo un 18,457 µg para extracto etanólico equivalente a un 80 % y un 4.7 µg para la infusión equivalente a un 20 % de concentración lo cual indica que el alcohol tiene mayor afinidad por los átomos de carbono y agua por su formación de puentes de hidrogeno y la baja solubilidad de los triterpenos.[6, 21]

Al identificarse el contenido de ácidos triterpénicos (TTA) que están compuestos por 6 unidades de isopreno que pueden ser tetracíclicos o pentacíclicas con grupos hidroxilos, cetonas, aldehído o ácido carboxílico, cuya acción está siendo reconocida por la industria farmacológica debido a que puede combatir algunos tipos de enfermedades que aquejan al ser humano. Este modelo está basado en un patrón positivo de comparación establecidos y validados por estudios que muestran

la presencia de estos principios activos, donde se busca mejorar su actividad terapéutica haciendo reaccionar los 2 grupo funcionales que tiene en su estructura química mejorando su solubilidad con el fin de ser más hidrosolubles y obtener la acción farmacológica especifica[1, 19] tal como ha sido investigado por **Lü H** y otros (**2009**), quien identificó fracciones de ácidos triterpenos totales a partir de *Eriobotrya japonica*" en la que confirmaron que el extracto de etanol al 70% de *Eriobotrya japonica* ejerció un efecto hipoglucemiante significativo en ratones diabéticos inducidos con aloxano y estreptozotocina, donde el glucósido sesquiterpeno aislado mostró un efecto positivo.[9] Por lo tanto, la fracción de ácido triterpeno total a partir de *Eriobotrya japonica* tiene un alto potencial anti - diabético junto con una buena actividad hipolipidémica. Los terpenos y terpenoides constituyen un grupo de metabolitos secundarios de amplia gama farmacológica con fines terapéuticos muy favorables en la industria farmacéutica.[1]

Se muestra que los compuestos bioactivos encontrados en las hojas del níspero incluyen actividades fenólicas, flavonoides, carotenoides y **triterpenoides** que exhiben diferentes funciones biológicas como actividades antioxidantes, antivirales, antitumorales, **hipoglucemiantes**, antiinflamatorias, citotóxicas, antimutagénicas e hipolipidémicas, siendo así suficientes, para el tratamiento de muchas dolencias en los humanos, existiendo una alternativa para el tratamiento complementario de algunas enfermedades.[26, 24]

En la concentración de ácidos triterpénicos existen factores que afectan a la solubilidad como: temperatura, presión, tamaño de partículas y la naturaleza del soluto - solvente, es por ello nuestro estudio se ve afectado por la temperatura y la naturaleza del soluto – solvente donde a mayor temperatura mayor solubilidad, por

ende el extracto etanólico al ser concentrado con el rota-vapor para separar el solvente del soluto a una temperatura de 60ºC donde la naturaleza del solvente es similar al soluto por lo que ayudo a la extracción y concentración de triterpenos. por otro lado, para la infusión fue favorecida por la temperatura debido a que se usa el agua a temperatura de 90ºC, pero por la naturaleza del solvente y tamaño de partícula se ve afectado en su concentración lo que resulta menor en la infusión que en el extracto etanólico.[30]

El empleo de plantas medicinales y de productos derivados de las mismas está aumentando de manera importante desde hace muchos años. Esto se debe a una serie de factores, entre los cuales debemos destacar el conocimiento preciso de su composición química, y el hecho de que en la actualidad dicha utilización se fundamenta en numerosos ensayos farmacológicos in vivo como in vitro, así como en ensayos químicos. De esta forma, el uso de las especies vegetales medicinales que se ha venido haciendo en forma empírica y basada en la tradición tiene hoy una base científica.

De acuerdo con los antecedentes y resultados observados se expresa que los compuestos identificados y cuantificados de *Eriobotrya japonica* de nuestra región presenta cantidades mayores de ácidos triterpénicos en el extracto etanólico frente a la infusión. Por lo tanto, los resultados pueden justificar el uso terapéutico como una alternativa contra diferentes enfermedades.

VI. CONCLUSIONES

Al realizar la comparación de los ácidos triterpénicos entre el extracto etanólico y la infusión de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero) arrojó que la concentración de ácidos triterpénicos en su mayoría pentacíclicas están presentes con mayor porcentaje en el extracto etanólico que en la infusión.

La identificación y cuantificación de ácidos triterpénicos en hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero) se encuentran en mayor cantidad en el extracto etanólico frente a la infusión encontrándose un promedio de 80 % para el extracto etanólico y un 20 % para la infusión revelando gran variedad de compuestos bioactivos naturales presentas en las hojas de la planta.

Con respecto a la investigación realizada, se plantea el uso de las hojas secas de *Eriobotrya japonica* debido a los componentes bioactivos presentes, los cuales hay mayor presencia en el extracto etanólico preparado a un 20% y la infusión preparada a un 4% donde su concentración se ve disminuida por la solubilidad de los terpenoides, pero si existe una concentración determinada de los mismos en dicho preparado.

VII. RECOMENDACIONES

Promover la investigación en especies vegetales para determinar sus propiedades farmacológicas en el tratamiento de afecciones en la salud.

Continuar estudios experimentales para aislar los ácidos triterpénicos y elaborar productos farmacéuticos modificando la solubilidad en los grupos funcionales (OH, COOH) presentes en su estructura para evaluar el efecto terapéutico de las hojas de níspero en la región Cajamarca.

Continuar con la búsqueda de más metabolitos secundarios con otros métodos específicos para enriquecer la investigación en *Eriobotrya japonica*.

Ampliar el estudio con *Eriobotrya japonica* para determinar dosis efectivas y dosis tóxica con el fin de utilizarlos en el control de enfermedades.

Ensayar la identificación y cuantificación de saponinas triterpénicos, glucósidos en vez de ácidos triterpénicos, para comparar las concentraciones y efectos terapéuticos que favorezcan a la salud.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martha M. Derivatización de triterpenos naturales para la obtención de agentes anti-cancerigenos y anti-virales. [Tesis Doctoral] Granada: Universidad de Granada 2017.

2. Fonseca M. Semisíntesis de derivados de ácido oleanólico y ácido maslínico en disolución y fase sólida. Estudio de sus propiedades biológicas. Granada - España: Universidad de Granada; 2014.

3. Siani AC, et al. Eficiencia y selectividad de la extracción con ácido triterpeno de decocciones y tinturas preparadas a partir de cáscaras de manzana. [Internet]. Rev. Pharmacogn Mag. 2014 (citado el 29 mayo del 2020); 10 (Supl. 2): S225 - S231. Disponible en: doi: 10.4103 / 0973-1296.133236

4. Bing-Xin T, et al. Bioactive triterpenoids from the leaves of Eriobotrya japonica as the natural PDE4 inhibitors. [Internet] Rev. Natural Product Research. 2017 (citado el 29 de mayo del 2020); 31:24, 2836 - 2841. DOI: 10.1080/14786419.2017.1300796

5. Vlasios G. y George M. Towards an Efficient Protocol for the Determination of Triterpenic Acids in Olive Fruit: A Comparative Study of Drying and Extraction Methods. [Internet]. Rev. Phytochemical Analysis. 2011 (citado el 29 de mayo del 2020); 33(5): 444 – 449.

6. Antonia F, et al. Effect of the Solvent and the Sample Preparation on the Determination of Triterpene Compounds in Two-Phase Olive-Mill-Waste Samples. [Internet]. 2015; Rev. J. Agric. Food Chem. 2015, 63, 4269−4275.

7. ILu W, et al. Pharmacological studies on anti - hyperglycemic effect of the leaves of Eriobotrya japonica. Rev. Phytomedicine. [Revista en Internet]. 2008; 31 (9): 1351 - 1354.

8. Ibarra M. Efecto hipoglucemiante de Tecoma stans y Eriobotrya japonica y su relación con la presencia del cromo como factor de tolerancia a la glucosa [Tesis Pos Grado]. Nueva León: Universidad Autónoma de Nuevo León 2009.

9. Lü H, Chen J, Li W, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of the total triterpene acid fraction from Folium Eriobotryae. Rev- Phytomedicine. [Revista en Internet]. 2009; 122 (3): 486 - 491.

10. Qa'dan F, Verspohl E, Nahrstedt A, et al. Cinchonain Ib isolated from Eriobotrya japonica induces insulin secretion in vitro and in vivo. Rev. Elsevier. [Revista en Internet]. 2009; 1 (124): 224 – 7.

11. Tamaya k, et al. Suppression of blood glucose level by a new fermented tea obtained by tea - rolling processing of loquat (Eriobotrya japonica) and green tea leaves in disaccharide-loaded Sprague - Dawley rats. Rev. Science of Food and Agriculture. [Revista en Internet]. 2010; 90 (5): 779 - 783.

12. Toshima A, et al. Identification of alpha-glucosidase inhibitors from a new fermented tea obtained by tea-rolling processing of loquat (Eriobotrya japonica) and green tea leaves. Rev. Science of Food and Agriculture. [Revista en Internet]. 2010; 90 (9):145 - 1550.

13. Castro K. Características Generales del Níspero. [Tesis de Grado] México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; México 2015.

14. Martínez V. Características del Níspero Japonés. Argentina. 2019. [Citado 20 de abril del 2019]. Disponible en: https://www.botanical-online.com/botanica/nispero-eriobotrya-japonica-caracteristicas

15. Stüber's K. Biologischen Fachbibliothek. In: Flora Japonica SPT, editor. Alemania 2003.

16. Castro S, Pinto L. Obtención y Conservación de Liofilizado de Níspero, Eriobotrya japonica. [Tesis de Grado] Ibarria: Universidad Técnica del Norte; Ecuador. 2008.

17. Del Valle C. Deshidratacion de níspero (Eriobotrya japonica) para producto de infusión. [Tesis de Grado] México: Universidad De Ciencias y Artes de Chiapas; México. 2017.

18. Jaime G. Terpenos [Internet]. 2012. (citado el 30 de mayo del 2020) Disponible en: https://contandolaciencia.com/los-terpenos/

19. Erika V. Actividades Biológicas de Extractos de Plantas y de sus Combinaciones. [Tesis] Madrid: Universidad Autónoma; España 2015.

20. Carlos A, Erik R. Cuantificación de ácidos oleanólico, ursólico y rosmarínico en tres especies de Clinopodium. Rev ArnaldoA [Revista en Internet] 2016: 23 (1): 333 – 350.

21. Pedro M. Química general. Elizcom: Armenia, Quindío. [Internet] 2008. (citado el 2 de junio del 2020) Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=lRdKK63ji-EC&pg=PA129&lpg=PA129&dq=polaridad+y+solubilidad&source=bl&ots=yFA-Kz3KBr&sig=ACfU3U20mQAlvhhI-3c6gZBB4CRUzZlwfQ&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjDnYyAguTpAhXRnOAKHe6RCyU4ChDoATACegQIChAB#v=onepage&q=polaridad%20y%20solubilidad&f=false

22. Lassny O, Andrea S. Estudio fitoquímicos de la especie vegetal Bucquetia glutinosa (L. f.) (melastomataceae) y evolución de su actividad biológica. [Tesis de Grado] Bogotá D. c.: Universidad de Ciencias y Aplicadas; Colombia. 2018

23. Gupta A, Maheta P, Chauhan R, Pandey S, Yadav JS, Shah S. Simultaneous quantification of bioactive triterpene acids (ursolic acid and oleanolic acid) in different extracts of Eucalyptus globulus (L) by HPTLC Method. Rev. Pharmacognosy J. [Revista en Internet] 2018;10(1):179-85.

24. Karla C., Brenda R. ANALISIS FITOQUIMICO PRELIMINAR DE LOS EXTRACTOS ORGANICOS DE *Maytenus segoviarum, Quetzalia reynae* Y *Zinowiewia integerrima* DE LA FAMILIA CELASTRACEAE PERTENECIENTES A LA FLORA SALVADOREÑA [Tesis de grado]. San Salvador: Universidad de el Salvador Facultad de Química y Farmacia; El Salvador Centro América. 2017

25. Carlos C., Jorge P., Luis C. Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *raputia heptaphylla* (rutaceae). Rev. Elementos [revista en internet]. 2014; (4), 31 - 39

26. Ley de Protección y Bienestar Animal N° 30407 [Internet]. Perú: Poder Legislativo; 2016. [Citado 28 de abril del 2019]. Disponible en: http://www.leyes.congreso.gob.pe/Documentos/Leyes/30407.pdf

27. Real Academia Española. Diccionario de Lengua Española. Madrid. [Internet] 2019 [Citado 22 de abril del 2019]. Disponible en: http://www.wordreference.com/definicion/extracto

28. Xu S, et al. Corosolic acid isolated from Eriobotrya japonica leaves reduces glucose level in human hepatocellular carcinoma cells, zebrafish and rats. Scientific Reports. [Revista en internet]. 2019; 9(1), 4388: 1 – 13

29. Ochoa S., Sarmiento A. Estudio Fitoquímico de la especie vegetal bucquetia glutinosa (l.f.) dc. (melastomataceae) y evaluación de su actividad biológica.

[Tesis de Grado] Bogotá D.C: Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales; Bogotá D.C. 2018

30. Xiao-Hong X, Qing S, Zhi-He Z. Simultaneous determination of oleanolic acid and ursolic acid by RP-HPLC in the leaves of Eriobotrya japonica Lindl. Journal of Pharmaceutical Analysis [Revista en Internet]. 2012;2(3):238–240

31. Jimmy B. Factores Que Determinan La Solubilidad. [Internet] 2016. (citado 12 de junio del 2020). Disponible en: https://es.scribd.com/document/317573288/Factores-Que-Determinan-La-Solubilidad

ANEXOS

ANEXO 1

PANEL FOTOGRÁFICO

Foto 01: Recolección de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero).

Foto 02: Selección y lavado de las hojas de la planta de *Eriobotrya japonica* (níspero).

Foto 03: Preparación del material vegetal para el tiempo y proceso de secado.

Foto 04: Proceso de pulverización envasado y etiquetado de la muestra vegetal.

Foto 05: Pesaje de la muestra seca vegetal para la elaboración del extracto etanólico.

Foto 06: Medida y agregado del alcohol de 70º a la muestra vegetal seca pesada.

Foto 07: Extracción del principio activo con la ayuda del agitador magnético.

Foto 08: Filtración del extracto etanólico para la obtención de la muestra vegetal.

Foto 09: Proceso de concentración del extracto etanólico con ayuda del rotavapor.

Foto 10: Secado de 1 mL de extracto etanólico en luna de reloj y 5 mL de infusión en capsula de porcelana ambos a 40ºC en la estufa.

Foto 11: Pesaje la muestra vegetal para obtener la infusión.

Foto 12: Infusión preparada y filtrado para la purificación.

Foto 13: Análisis cualitativo mediante el ensayo de Liebermann Burchard.

Foto 14: Reactivo (T° 2 – 8ºC) usado para la preparación de la solución madre.

Foto 15: Preparación de la solución madre para la curva de calibración.

Foto 16: Preparación de 5 soluciones a partir de la solución madre que se llevó a sequedad luego se agregó solución de vainillina al 5% en ácido acético glacial y acido perclórico llevando a baño maría a 40ºC por 45 minutos.

Foto 17: Después del tiempo pasado de baño maría, se enfría en baño de hielo.

Foto 18: Luego de enfriar se agrega 5 mL de ácido acético glacial observando una coloración.

Foto 19: Luego de la agitación se lleva a la lectura en el espectrofotómetro a 548 nm.

Foto 20: Preparación de las soluciones del extracto etanólico y la infusión.

Foto 21: Medir 5 soluciones por cada preparado (extracto etanólico/infusión) y se lleva a sequedad, luego se agrega los reactivos y se lleva a baño maría a 40ºC por 45´

Foto 22: Después de los 45 minutos se enfrían a baño de hielo.

Foto 23: Luego de enfriar se agrega 5 mL de ácido acético glacial a las 5 soluciones de cada preparado.

Foto 24: Luego se agita y se mide la absorbancia a 548 nm ambas muestras.