

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO



UPAGU

Facultad de Ciencias de la Salud

“DR. WILMAN RUIZ VIGO”

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL
EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Costus igneus*
“INSULINA”**

Cynthia Karina Yncio Chunga

Anyela Evelin Pérez Cieza

Asesor (a):

Mg. Q.F. Patricia Roxana Burga Chávez

Cajamarca - Perú

Marzo - 2021

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO



UPAGU

Facultad de Ciencias de la Salud

“DR. WILMAN RUIZ VIGO”

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL
EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Costus igneus*
“INSULINA”**

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

Bach. Cynthia Karina Yncio Chunga

Bach. Anyela Evelin Pérez Cieza

Asesor (a): Mg. Q.F. Patricia Roxana Burga Chávez

Cajamarca - Perú

Marzo - 2021

COPYRIGHT © 2021 by
CYNTHIA KARINA YNCIO CHUNGA
ANYELA EVELIN PEREZ CIEZA
Todos los derechos reservados

PRESENTACIÓN

SEÑORES MIEMBROS DEL JURADO DICTAMINADOR:

Dando cumplimiento a lo establecido por el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, sometemos a vuestra consideración y elevado criterio profesional el presente trabajo de investigación intitulado: **Determinación de la actividad antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”**, con el cual aspiramos obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Es propicia la oportunidad para expresar un cordial agradecimiento a nuestra Alma mater la “Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo”, y a su plana docente, que con su aptitud y buen interés cooperaron en nuestra formación profesional.

Señores miembros del Jurado, dejamos a su disposición la presente tesis para su evaluación y sugerencias.

Cajamarca, marzo de 2021

Cynthia Karina Yncio Chunga
BACH. EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Anyela Evelin Pérez Cieza
BACH. EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

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

**Determinación de la capacidad antioxidante del extracto metanólico de las
hojas de *Costus igneus* “Insulina”**

JURADO EVALUADOR

Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda

(PRESIDENTE)

Mg. Q.F. Fredy Martos Rodríguez

(SECRETARIO)

Mg. Q.F. Patricia Roxana Burga Chávez

(VOCAL)

DEDICATORIA

A Dios por consolidar mi corazón e iluminar mi mente, así mismo por haber puesto en mi camino a personas que han sido mi pilar y compañía durante todo el periodo de estudios que hoy se ve reflejado en la culminación de este trabajo.

A mi madre, Ruth Esperanza Chunga Huatay, por haber dedicado todo su tiempo en ser mi apoyo incondicional, en darme el aliento para seguir adelante y no desvanecerme en ningún obstáculo que se presentaba en el transcurso de mi vida.

A mi padre, Wilmer Yncio Delgado, que se encuentra al lado de nuestro padre celestial, por haberme dado todas las herramientas necesarias para seguir en la vida, siendo mi ángel que siempre me guía y me protege de todo lo malo que pueda pasarme.

A mi esposo, Hernán Escobar Pérez, por darme la confianza y la sabiduría de seguir esforzándome cada día más, por su amor y paciencia en el tiempo necesario para realizarme profesionalmente.

A mi hermano, Leonel Yncio Chunga, por su aliento de perseverancia y en estar presente en cada paso que doy.

A mi pequeña hijita, Jarumi Escobar Yncio, que es la razón de mi vida y el motivo por el cual debo seguir adelante y nunca darme por vencida.

Cynthia

DEDICATORIA

A Dios, por cuidarme y guiar mis pasos, por permitirme alcanzar mis metas trazadas, por poner en mi camino a personas maravillosas como mis padres, hermanos y toda mi familia ya que son el soporte en mi vida y me ayudan a cumplir todas mis metas.

A mi madre, María Lucero Cieza Quispe, por haber dedicado toda su vida y su tiempo para poder instruirme y guiar mis pasos para cumplir mis metas trazadas y aconsejándome para superar cada obstáculo que se me presenta en la vida.

A mi padre, José Pérez Uriarte, por haber guiado mis pasos y apoyarme económica y emocionalmente, porque siempre me enseñó a perseverar con cariño y amor ante cualquier dificultad.

A mi hermana, Lisbeth Noemí Pérez Cieza, por su apoyo durante toda mi vida por aconsejarme a ser perseverante en mis estudios y en mis metas propuestas.

Anyela

AGRADECIMIENTOS

A nuestra Alma máter, la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, y a la plana docente de la escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica que con su capacidad y buena voluntad contribuyeron en nuestra formación profesional.

A la Mg. Q.F. Patricia Roxana Burga Chávez, por su apoyo y constantes enseñanzas durante todo el desarrollo de este trabajo de investigación.

Al Mg. Q.F. Alexander Jair Ríos Ñontol y al Q.F. Brando Rafael Quispe Rodríguez por el apoyo proporcionado durante la ejecución y los procesos técnicos de esta investigación.

Cynthia y Anyela

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo principal evaluar la capacidad antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”.

La muestra vegetal se recolectó de la provincia de Jaén del departamento de Cajamarca, fue trasladada al laboratorio Multifuncional de la UPAGU donde fue secada y pulverizada para estabilizar los principios activos de la planta. Para la preparación de los extractos metanólicos se pesaron 5 g, 10 g y 20 g de la muestra pulverizada y se colocaron en distintos matraces, adicionando 100 mL de metanol en cada uno. Luego de un proceso de maceración por dos días se obtuvieron extractos al 5 %, 10 % y 20 %. Adicionalmente se realizaron ensayos como el de cloruro férrico y Shinoda para evaluar la existencia de metabolitos secundarios. Los resultados demostraron la presencia de taninos y flavonoides.

Para la determinación de la actividad antioxidante se utilizó el método de captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Los resultados mostraron que la actividad antioxidante es directamente proporcional a la concentración del extracto metanólico, observándose la mayor actividad de captación de radicales libres (98,03%) con la concentración de 20%, y la menor (74,41%) con la concentración de 5%. Estos resultados según el ANOVA, son estadísticamente significativos ($p = 0,000$; IC = 95%) comparados con la actividad antioxidante de la sustancia patrón, Trolox; concluyendo en que los extractos metanólicos de las hojas de *Costus igneus* “Insulina” tienen actividad antioxidante.

Palabras claves: Actividad antioxidante, extracto metanólico, *Costus igneus* “Insulina”, triclorigenol, Shinoda, DPPH.

ABSTRACT

The main objective of the present investigation was to evaluate the antioxidant capacity of the methanolic extract of the leaves of *Costus igneus* "Insulin".

The plant sample was collected from the province of Jaén in the department of Cajamarca, it was transferred to the Multifunctional laboratory of the UPAGU where it was dried and pulverized to stabilize the active principles of the plant. For the preparation of the methanolic extracts, 5 g, 10 g and 20 g of the pulverized sample were weighed and placed in different flasks, adding 100 mL of methanol in each one. After a maceration process for two days, extracts were obtained at 5%, 10% and 20%. Additionally, were carried out tests such as ferric chloride and Shinoda to evaluate the existence of secondary metabolites. The results demonstrated the presence of tannins and flavonoids.

For the determination of the antioxidant activity, the method for capturing the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) was used. The results showed that the antioxidant activity is directly proportional to the concentration of the methanolic extract, with the highest free radical scavenging activity (98,03%) being observed with the 20% concentration, and the lowest (74,41%) with the 5% concentration. These results according to the ANOVA, are statistically significant ($p = 0,000$; CI = 95%) compared with the antioxidant activity of the standard substance, Trolox; concluding that the methanolic extracts of the leaves of *Costus igneus* "Insulin" have antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant activity, methanolic extract, *Costus igneus* "Insulin", ferric trichloride, Shinoda, DPPH.

ÍNDICE

PRESENTACIÓN.....	iii
JURADO EVALUADOR	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT	ix
ÍNDICE	x
LISTA DE TABLAS.....	xii
LISTA DE GRÁFICOS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xiv
LISTA DE SIGLAS Y ABREVIACIONES	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Teorías que sustentan la investigación	4
2.2. Bases teóricas	7
2.3. Definición de términos básicos	33
III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	34
3.1. Unidad de análisis, universo y muestra	34
3.2. Métodos de investigación.....	35
3.3. Técnicas de investigación	36
3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos.....	41

3.5. Técnicas de análisis de datos.....	42
3.6. Aspectos éticos de la Investigación.....	42
IV. RESULTADOS	44
V. DISCUSIÓN	50
VI. CONCLUSIONES	58
VII. RECOMENDACIONES	59
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
ANEXOS.....	68

LISTA DE TABLAS

Tabla 1:	Clasificación taxonómica de <i>Costus igneus</i> “Insulina”.....	9
Tabla 2:	Clasificación de los flavonoides.....	14
Tabla 3:	Función de los antioxidantes enzimáticos.....	26
Tabla 4:	Función de antioxidantes no enzimáticos.....	27
Tabla 5:	Método del DPPH – reactivos a colocar	40
Tabla 6:	Clasificación organoléptica de las hojas de <i>Costus igneus</i> “Insulina”	44
Tabla 7:	Resultado de la identificación de taninos.....	44
Tabla 8:	Resultado de la identificación de flavonoides.....	45
Tabla 9:	Porcentaje de la captación de radicales libres en el extracto metanólico de las hojas de <i>Costus igneus</i> “Insulina”.....	46
Tabla 10:	Significancia estadística de acuerdo a la prueba estadística ANOVA para las concentraciones: 5%, 10% y 20% del extracto metanólico de las hojas de <i>Costus Igneus</i> “Insulina”.....	47
Tabla 11:	Significancia Estadística de acuerdo a la prueba estadística post hoc Tukey para el control, patrón, concentración al 5%, 10% y 20% del extracto metanólico de las hojas de <i>Costus Igneus</i> “Insulina”	48

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Porcentaje de captación de radicales libres en las diferentes

concentraciones 5%,10% y 20% del extracto metanólico de

las hojas de *Costus igneus* “Insulina” 47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Costus igneus</i> “Insulina”	8
Figura 2: Arbusto de <i>Costus igneus</i> “Insulina”	10
Figura 3: Estructura química del ácido ascórbico (vitamina C).	11
Figura 4: Principales carotenos.....	12
Figura 5: Tipos de anillos heterocíclicos de los flavonoides.	13
Figura 6: Acción de los compuestos fenólicos.	15
Figura 7: Estructura química de los taninos hidrolizables.	16
Figura 8: Estructura química de los taninos condensados.	17
Figura 9: Proceso del estrés oxidativo.	20
Figura 10: Interacción de los radicales libres.	23
Figura 11: Transformación de los radicales libres.....	24
Figura 12: Antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.	25
Figura 13: Reacción de la prueba de tricloruro férrico.	29
Figura 14: Reacción de la prueba de Shinoda.....	30
Figura 15: Reacción del DPPH y coloración.....	31

LISTA DE SIGLAS Y ABREVIACIONES

ABTS	: 2,2' - Azino - Bis (ácido -3- etilbenzotiazolina -6- sulfónico).
ADN	: Ácido Desoxirribonucleico.
ADP	: Adenosín Difosfato.
ATP	: Trifosfato de Adenosina.
CAT	: Catalasa.
DPPH	: 2,2 – Difenil -1- Picrilhidrazilo.
EPOC	: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.
ERN	: Especies Reactivas de Nitrógeno.
ERO	: Especies Reactivas de Oxígeno.
H₂O₂	: Peróxido de Hidrógeno.
NAD⁺	: Dinucleótido de Adenina y Nicotinamida oxidada.
NADPH	: Dinucleótido de Adenina y Nicotinamida Fosfato Reducida.
NOS	: Óxido Nítrico Sintasa.
RL	: Radical Libre.
SOD	: Superóxido Dismutasa.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad muchas personas tenemos una vida agitada en las cuales optamos por consumir comidas rápidas las cuales causan desafortunadamente un daño en la salud provocando enfermedades tales como: obesidad, problemas cardiacos, respiratorios y entre otros; de igual forma el organismo humano produce un insuficiente equilibrio de ciertas sustancias llamadas prooxidantes y antioxidantes, dicho desequilibrio provocaría un mayor aumento de estas sustancias lo cual conlleva a un daño irreversible o la muerte de la célula; de la misma forma existe esfuerzos en ciertas investigaciones que han durado muchos años dando a demostrar que existen plantas medicinales que contienen un potencial elevado para la solución del desequilibrio celular o llamado también “estrés oxidativo”, con dicho potencial se evitaría un daño irreparable de las células.^{1,2}

El Perú siendo un país predilecto con una enorme diversidad en productos naturales, conlleva que entre ellos destaca las hojas de *Costus igneus* “Insulina” de la Selva alta del Noreste de nuestro país de no más de 60 centímetros, de color verde e impregnando una brillantez.³ La Insulina posee grandes propiedades de las cuales se encuentran las proteínas, hierro y componentes antioxidantes como ácido ascórbico, α -tocoferol, β -caroteno, taninos, esteroides y flavonoides; por tanto, estos metabolitos tienen gran eficacia para reducir el estrés oxidativo y las enfermedades mediadas por radicales libres.² Por ejemplo, los taninos que en su mayoría muestran una gran capacidad para

estabilizar las alteraciones metabólicas de las células neoplásicas, por tal motivo al existir células inflamatorias, contribuyen a un elevado nivel de estrés oxidativo.³ Así mismo en los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y secuestradoras de radicales libres, por tal razón destacan por su baja toxicidad, presentando en general actividad sobre el sistema vascular con acción vitamínica P (efecto protector de la pared vascular, debido a la disminución de la permeabilidad y al aumento de la resistencia de los capilares).⁴ Teniendo en cuenta que tienen efecto antioxidante e anti mutagénica, donde pueden inhibir la peroxidación lipídica de diversas enzimas.^{3,4}

En la región Cajamarca presenta uno de los grandes problemas en enfermedades crónicas; no trasmisibles en consecuencia, esta especie vegetal presenta gran actividad antioxidante,² entre los cuales los más comunes son las enfermedades cardiovasculares, envejecimiento de la célula, diabetes, arterioesclerosis; siendo estos problemas de salud los más comunes en dicha ciudad.

En definitiva, la determinación de la capacidad antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”, permitirá conocer su potencial medicinal y agroindustrial de esta especie; por lo tanto, revelará resultados alentadores ante las ya mencionadas enfermedades; cabe recordar que las diferentes investigaciones realizadas sobre las hojas de *Costus igneus*

“Insulina” reportan que la acción antioxidante se encuentra presente en las hojas y en el tallo de este arbusto.¹

Por lo mencionado se formuló la siguiente pregunta de investigación:

¿Tendrá capacidad antioxidante el extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”?

Y se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General

Determinar la capacidad antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”.

Objetivos Específicos

- Determinar la presencia de compuestos fenólicos del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”
- Determinar la presencia de flavonoides del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”
- Evaluar la actividad antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”, mediante el método captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).

Con la finalidad de dar respuesta a la pregunta y objetivos planteados se formuló la siguiente hipótesis: El extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina” tienen actividad antioxidante.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Teorías que sustentan la investigación

Reddy J et al (2018)⁶, en su investigación denominada “Análisis cromatológico de fitoquímicos en *Costus igneus* y estudios computarizados de flavonoides” se planteó que en diversos estudios de literatura muestran que posee propiedades antioxidantes, diuréticas, antimicrobianas y anticancerosas. Además, utilizaron la técnica del análisis cromatográfico de capa fina (TLC) de *Costus igneus* en extractos de metanol de una hoja se separó usando una fase estacionaria que contenía una placa con gel de sílice de aluminio con un tamaño de 10 x 10 cm. El ensayo de Sudán III, permite reconocer en una las hojas de *Costus igneus* fueron seleccionadas, lavadas y desecadas en la estufa a 40 °C por dos horas, luego fueron pulverizadas con la ayuda de un mortero y tamizadas por un N° 20 el extracto metanólico tuvo como presencia de compuestos fenólicos, se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos, respectivamente. Teniendo como resultado un análisis cuantitativo adicional para determinar el contenido total de flavonoides del extracto de la hoja el cual tiene como resultado un 58 mg/L de actividad antioxidante.

Victoria A et al (2008)⁷, realizaron una investigación denominada “Estudios sobre la actividad antioxidante del extracto de hojas de *Costus Igneus*”, para la obtención del extracto hexánico se colocaron en un matraz Erlenmeyer 50

gramos de la planta seca y molida, se agregaron 250 mL de hexano, se tapó el matraz y se colocó en un agitador eléctrico por 48 horas, se filtró como se explicó anteriormente para el extracto acuoso. El sobrenadante se eliminó por evaporación a 37 °C por 3 días y se obtuvo el extracto hexánico, se pesó el rendimiento, cuyo objetivo fue investigar la actividad antioxidante del extracto de hoja utilizando cuatro métodos, a saber. Ensayo DPPH, ensayo de reducción de potencia, ensayo de eliminación de radicales superóxido y ensayo Folin-ciocalteu. En el cual el primer ensayo de potencia reductora, el extracto de la planta mostró un aumento del 75,43% en la potencia reductora en comparación con el trolox, que mostró un 91,94%, a una concentración de 16 µg /ml. En el ensayo DPPH, el extracto de la planta produjo 71,85% de actividad de eliminación de DPPH, en comparación con el trolox que produjo 84,47% a una concentración de 160 µg / ml. En la actividad de eliminación de superóxido, el extracto de la planta produjo el 68,19% de actividad de eliminación de radicales en comparación con el estándar que mostró el 79,78% a una concentración de 800 µg/ml. Es así que al encontrarse con el IC50 era 177 y 367 µg/ml del extracto estándar y el extracto de la planta respectivamente.

Sapna P et al (2019)⁸, en su estudio “Perfil de nutrientes y componentes antioxidantes de *Costus speciosus Sm.* y *Costus igneus Nak.*”, cuyo objetivo fue la evaluación fitoquímica donde se analizó su composición próxima y componentes antioxidantes. Ambas especies contienen 18 y 15.3% de proteína, 46 y 120 mg de hierro, 81 y 216 mg de ácido ascórbico, 660 y 1833 µg de β-caroteno, 149 y 25 mg de α-tocoferol, 75 y 400 mmol de GSH, 4,4 y 2,1g en

total fenoles y 0,848 y 1,89 mg/g de extracto de flavonoides totales, respectivamente. Los datos revelaron que ambas plantas son buenas fuentes de nutrientes y componentes antioxidantes naturales.

Báez C (2007)⁹, realizó un estudio denominado “Potencial antioxidante y citotóxico de extractos de hojas de *Costus igneus*”. En el cual planteó como objetivo evaluar el potencial antioxidante y citotóxico de diferentes extractos de hojas de *C. igneus*. Teniendo como método el extractos de hojas de *C. igneus* donde se estable mediante el ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP), el ensayo 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS), actividad quelante de metales, ensayo de fosfomolibdeno, actividad de eliminación de radicales superóxido, ensayo de 2,2-difenilpicrilhidrazilo (DPPH), ensayo de potencia reductora y actividad citotóxica por 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolio ensayo de bromuro (MTT) en la línea celular de cáncer de mama Michigan Cáncer Foundation (MCF-7). De lo cual dio como resultado que el ensayo FRAP, el extracto de acetona mostró una mayor actividad de 276,31 mmol de extracto de Fe (II) E/mg. En el ensayo ABTS, el extracto de hexano mostró la mayor actividad de eliminación de 12,878.893 μ M de capacidad antioxidante equivalente Trolox (TEAC) / g de extracto. En donde el extracto de agua caliente registró una mayor capacidad de quelación de iones metálicos con 2,94 mg de equivalente de ácido etilendiaminotetraacético / g de extracto. El extracto de hexano ha registrado la capacidad antioxidante total más alta de 65,00 mg AAE / mg en el ensayo de fosfomolibdeno. La actividad de eliminación de radicales superóxidos se

maximizó en extracto de acetona con 41,11%. En el ensayo DPPH, el extracto de acetona registró una capacidad total de eliminación de radicales libres con un valor de CI 50 de 40,70 µg/ml. El extracto de hexano ha registrado un poder reductor significativamente más alto a una concentración de 100 µg / µl con una densidad óptica máxima de 0,177. El extracto de acetona del extracto de hoja de *Costus igneus* a una concentración de 150 µg/ml mostró la mayor actividad citotóxica en la línea celular de cáncer con una viabilidad celular del 65,51%. Se llegó a la conclusión de que *Costus igneus* muestra actividad antioxidante eficiente, así como actividad citotóxica y podría actuar como seguro y beneficioso para las aplicaciones biológicas.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. *Costus igneus* “Insulina”

2.2.1.1. Historia

Originaria de Brasil, donde una parte de selva tropical cubre el 90% de la superficie, está dispersada en varios países tropicales de América, también las islas del pacífico como: Hawai, Taiwán, Malasia, Filipinas, India.¹⁴

Utilizada comúnmente para tratar desordenes glicémicos en pacientes con diabetes, ayuda a la prevención de algunos tipos de daños a la célula, contra el estrés oxidativo, entre otros beneficios.¹⁵

- Nombre vulgar: Insulina
- Nombre científico: *Costus igneus*

- Familia: Costaceae
- Parte usada: Partes aéreas, hojas. Con usos antioxidativo.



Figura 1: *Costus igneus* “Insulina”.

Fuente: Harini A Prakash, Hegde L, Kumar S, Rao N P. Macro-microscopy and TLC atlas of leaves of *Costus igneus* Nak. Journal of Ayurveda Medical Sciences 1, 2016, 5-11.¹⁵

2.2.1.2. Clasificación botánica

La planta pertenece a la familia Costaceae. Las Costaceae fueron prominentes por primera vez al rango de familia por Nakai sobre la base de que las hojas y los rizomas que son apercibidos de la forma en espiral en lo cual no contenían aceites esenciales aromáticos. Antes de la elevación a la categoría de familia, Engler y Prantl (2010),¹⁷ reconocieron a Asteroideae como una subfamilia de Zingiberanae. Por otro lado, la familia Costaceae consta de cuatro géneros y aproximadamente 200 especies. El género *Costus* es el más grande de la familia con alrededor de 150 especies que son principalmente de distribución tropical. De tal modo está ubicado en la siguiente categoría:¹⁸

Tabla 1: Clasificación taxonómica de *Costus igneus* “Insulina”.

Nombre científico:	<i>Costus igneus</i> NEBR
Dominio:	Eucariota
Reino:	Tracheophyta
Subreino:	Euphyllophytina
Subdivisión:	Radiatopses
Clase:	Liliopsida
Subclase:	Commelinidae
Superorden:	Zingiberanae
Orden:	Zingiberales
Familia:	Costaceae
Subfamilia:	Asteroideae
Tribu:	Coreopsideae
Género:	Costus
Epíteto específico:	Igneus

Fuente: Harini A Prakash, Hegde L, Kumar S, Rao N P. Macro-microscopy and TLC atlas of leaves of *Costus igneus* Nak. Journal of Ayurveda Medical Sciences. 1, 2016, 5-11.¹⁸

2.2.1.3. Descripción morfológica

Es un arbusto vertical, perenne y mide aproximadamente 60 cm de alto. Consta de largas ramas que caen sobre el suelo.¹⁴ Las hojas son simples, de color verde oscuro, alternas, de veinte a veinticinco cm de largo con varias venas gruesas paralelas. Está presente un rizoma suave, cilíndrico, carnoso, de color marrón pálido.^{14,15} También está presente una raíz de golpe fuerte que es más ancha en la parte superior, de forma sub-cilíndrica con color marrón oscuro.¹⁵ En la parte superior de las ramas, hay flores anaranjadas hermosas lo cual se produce en los meses cálidos, que aparecen en las cabezas de cono como en las puntas de las ramas. Las frutas son muy pequeñas, de color verde.¹⁴



Figura 2: Arbusto de *Costus igneus* “Insulina”.

Fuente: Harini A Prakash, Hegde L, Kumar S, Rao N P. Macro-microscopy and TLC atlas of leaves of *Costus igneus* Nak. Journal of Ayurveda Medical Sciences 1, 2016, 5-11.¹⁵

2.2.1.4. Composición química

Las hojas de *Costus igneus* “Insulina”, contiene un componente que es la quercetina. Se aisló como principio activo del extracto de metanol.¹⁷ En estudios fitoquímicos se encontró que las hojas de *Costus igneus* son ricas en proteínas, hierro, y componentes antioxidantes tales como ácido ascórbico, α -tocoferol, β -caroteno, terpenoides, esteroides y flavonoides, pero en otro estudio se encontró que el extracto metanólico contiene carbohidratos, proteínas, alcaloides, taninos, saponinas y flavonoides.¹⁸

2.2.1.5. Descripción de las propiedades fitoquímicos de la hoja de *Costus igneus* “Insulina”

a. Ácido ascórbico (vitamina C): Por lo general es hidrosoluble el cual es muy importante ya que es la primera defensa antioxidante del plasma, el

cual al inhibir la oxidación en los lípidos actúa regenerando a la vitamina E.²⁸

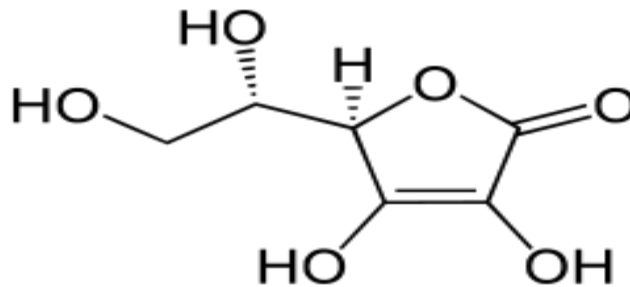


Figura 3: Estructura química del ácido ascórbico (vitamina C).

Fuente: Murillo E (2002). Principales Antioxidantes de los alimentos. Memoria del Seminario Taller Vitaminas, Antioxidantes y salud. Panamá.²⁸

b. β - caroteno: Son pigmentos que proveen más del 50% de la vitamina A, lo cual es necesaria para prevenir ciertas enfermedades de las cuales se encuentran las cataratas, artrosis, el síndrome de fatiga crónica, envejecimiento de la piel, SIDA, el alcoholismo, la enfermedad de Alzheimer, la depresión, la diabetes, la epilepsia y/e el dolor de cabeza. Por tal razón se encuentra en todos los vegetales de diversos colores como en el color amarillo, anaranjado y rojo. Finalmente siendo muy soluble en los lípidos se unen a diferentes especies reactivas de oxígeno, de tal manera que lo hacen teniendo dos funciones en las cuales cada una de ellas actúan directamente enganchándose con el oxígeno simple y de lipoperóxidos.²⁸

CAROTENOS

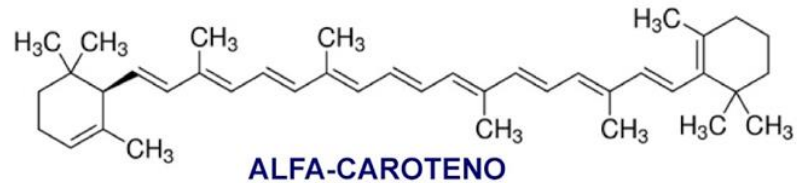
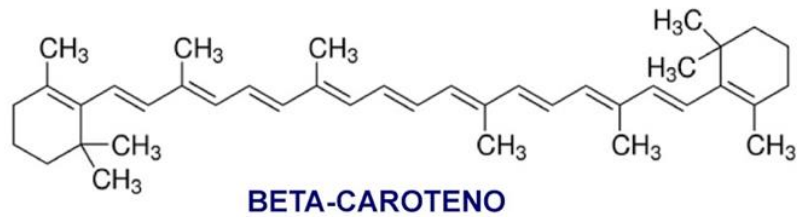


Figura 4: Principales carotenos.

Fuente: Murillo E (2002). Principales Antioxidantes de los alimentos. Memoria del Seminario Taller Vitaminas, Antioxidantes y salud. Panamá.²⁸

c. **Flavonoides:** Es uno de los compuestos más importantes considerando que los polifenoles se distribuyen en cualquier parte de una planta. Presenta un bajo peso molecular que se tiene a diferencia de los difenil-píranos; predominando por su pérdida de toxicidad, exteriorizando la actividad sobre el sistema vascular con acción vitamínica P (teniendo así un impacto protector en la pared vascular, siendo oportuno para la reducción de la permeabilidad y el ascenso de la resistencia de los capilares).³⁵ Es así, que tienen un efecto antioxidante, pueden inhibir la peroxidación lipídica, poseen efectos antimutagénica y tienen la capacidad de inhibir diversas enzimas. La acción antioxidante de los flavonoides depende principalmente de su capacidad de reducir RL y quelante en metales, imposibilitando las reacciones catalizadoras de los radicales libres.³⁵ También actúan inhibiendo sistemas enzimáticos

conectándose con la operabilidad vascular como: la catecol-O-metil transferasa (COMT), con lo que acrecientan la permanencia de la acción de las catecolaminas, incurriendo por tanto en la resistencia vascular; la histidina decarboxilasa, perjudicando por tanto a la acción de la histamina; las fosfodiesterasas, por lo que inhiben la agregación y adhesividad plaquetaria, etc.³⁶

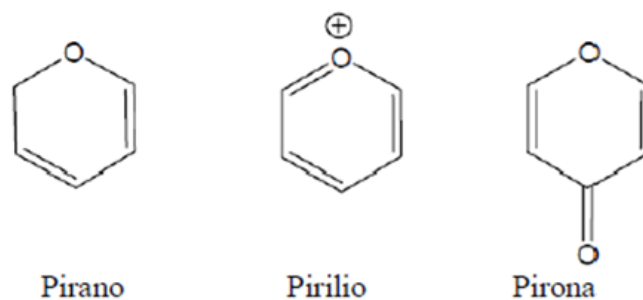


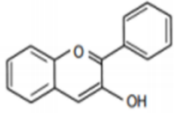
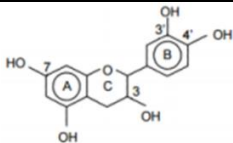
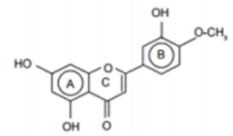
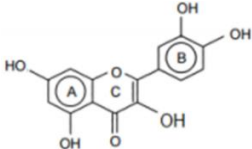
Figura 5: Tipos de anillos heterocíclicos de los flavonoides.

Fuente: Vermerris, Wilfred, y Ralph Nicholson. Phenolic Compound Biochemistry. Primera Edición. Dordrecht: Springer, 2006.³⁶

- **Clasificación de los flavonoides**

Dentro de los flavonoides, se reconocen 7 clases principales, de los cuales los grupos funcionales poseen, las calconas, las flavonas, los flavonoles, los flavandioles, las antocianinas, los taninos condensados, y algunos autores consideran también a las auronas.^{38,39}

Tabla 2: Clasificación de los flavonoides.

Nombre	Descripción	Ejemplo	Estructura
Antocianinas	Tiene un grupo –OH unido en posición 3, pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.	Antocianinas	
Flavanos	Con un grupo –OH en posición 3 del anillo C.	Catequina	
Flavonas	Poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3.	Diosmetina	
Flavonoles	Grupo carbonilo en posición 4 y un grupo –OH en posición 3 del anillo C.	Quercetina	

Fuente: Felipe M, Pozuelo M (2005). Flavonoides, Isoflavonoides y Salud. Revista Científica – Murcia G³⁹.

- **Propiedades de los flavonoides**

Los flavonoides son reconocidos en diversos estudios ya que al unirse con el compuesto enzimático pueden quelar iones metálicos como el Fe³⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, para catalizar el transporte de electrones y para eliminar los radicales libres.³⁵

Es así que el mecanismo de ciertos fitoquímicos son patológicamente para la diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones virales, úlceras, así también se les ha dado un uso como antialérgicos, antitrombóticos e incluso como antiinflamatorios.³⁶

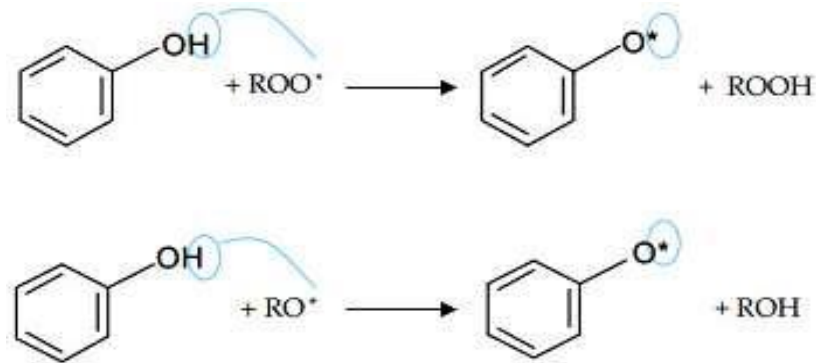


Figura 6: Acción de los compuestos fenólicos.

Fuente: Vermerris A, Wilfred T y Ralph N. Phenolic Compound Biochemistry. Primera Edición. Dordrecht: Springer, 2006.³⁶

d. Taninos:

Son compuesto fenólico que abunda en muchas plantas y frutos. Son hidrosolubles, de sabor áspero y amargo³⁸, dando a veces disoluciones coloidales en agua, solubles también en alcohol y en acetona e insolubles en disolventes orgánicos apolares. Dentro de los vegetales los taninos suelen encontrarse en las vacuolas celulares combinados con alcaloides, proteínas e hidratos de carbono.³⁷

- **Clasificación de taninos**

La clasificación se da por la discrepancia en estructura y origen, es así que estos pueden ser taninos hidrolizables o pirogálicos y taninos condensados.³⁶

- **Taninos hidrolizables**

Son la denominación en la cual indica con facilidad la hidrolización de los ácidos y álcalis por la vía enzimática de los cuales pueden generar la formación de patógenos, localizando las dicotiledóneas principalmente en Fagaceae, Anacardiaceae y Leguminosae.

Es así que este grupo son polímeros propiamente dichos del ácido gálico, ésteres de un polioliol y principalmente varían las moléculas de la glucosa, es así que también ésteres gálicos son primordiales, pero en este caso del ácido hexahidroxidifénico y sus derivados.³⁶

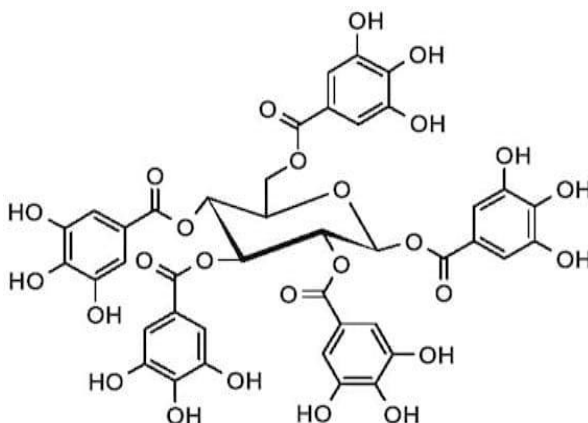


Figura 7: Estructura química de los taninos hidrolizables.

Fuente: Vázquez - Flores A, Álvarez - Parrilla E, López - Díaz JA, Wall – Medrano A, de la Rosa LA. Taninos hidrolizables y condensados: Naturaleza química, ventajas y desventajas de consumo. *Tecnociencia*. 2012; 6(2): 84-9.³⁹

- **Taninos condensados**

Son los más estudiados ya que tienen una actividad antioxidante, de manera que reportan un beneficio para la salud en parte a su actividad antibacteriana y bacteriostática,³⁷ es un inhibidor de la peroxidación lipídica, y así mismo tiene una agregación plaquetaria que forman trombos en el sistema circulatorio.³⁸

Son unidades que contienen catequina vinculadas a galotanino o elagitanino. El cual es factible hallar este tipo de taninos en dicotiledóneas, gimnospermas y los helechos, es por eso que existe la diferencia en los taninos hidrolizables ya que estos exterioricen resistencia a la hidrólisis. En el sistema in vitro estos metabolitos suelen presentar una capacidad estabilizadora ante los radicales libre hidróxilo, es así que también revelaron la fácil unidad para actuar como un inhibidor no competitivo de la enzima xantina oxidasa y que exteriorizan la capacidad de impedir la oxidación de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) precaviendo la formación de trombosis en personas que sufren aterosclerosis.³⁹

En la identificación de los presentes taninos condensados en la reacción con el cloruro férrico en la cual se evidencia una coloración verde oscura.³⁹

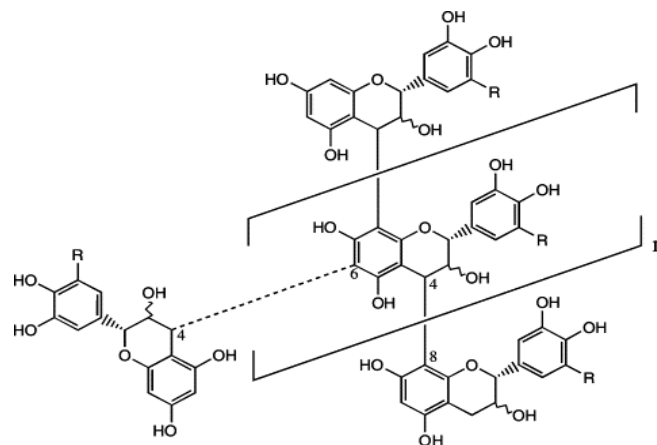


Figura 8: Estructura química de los taninos condensados.

Fuente: Vázquez - Flores A, Álvarez - Parrilla E, López - Díaz JA, Wall – Medrano A, de la Rosa LA. Taninos hidrolizables y condensados: Naturaleza química, ventajas y desventajas de consumo. *Tecnociencia*. 2012; 6(2): 84-9.³⁹

2.2.1.6. Propiedades medicinales y tradicionales

Sus propiedades medicinales que se le aporta a las hojas de insulina son con potencial muy diverso. El amplio espectro de los fitoquímicos encontrados la hace ideal para usos nutricionales y medicinales.¹⁷ Diferentes estudios fitoquímicos y farmacológicos aportan conocimientos en ciencias nutricionales y médicas, uno de sus beneficios es en el tratamiento del: dolor, angina, tos, dermatosis, diabetes, diarrea, gingivitis, dolor de cabeza hipertensión, inflamación nausea, reumatismo y escorbuto”.¹⁶

Las hojas de la Insulina se utilizan como suplemento en el tratamiento de la diabetes; se sabe que las personas diabéticas comen una hoja diaria para mantener bajos los niveles de glucosa en la sangre. En años recientes se le ha recomendado como diurético, antioxidante, antimicrobiano y anticancerígeno. En la medicina tradicional de nuestro país, la parte aérea de la insulina (*Costus igneus* D. Don) es utilizada como infusión para tratar desórdenes renales.¹⁸

2.2.1.7. Posología

Las hojas y los rizomas de *Costus igneus* mostraron una buena actividad antioxidante de aproximadamente el 89,5% y el 90,0% en comparación con el BHT estándar (hidroxi tileno butilado) (85%) a una concentración de 400 µg/ml.¹⁷ En un estudio, el extracto metanólico de hojas de *Costus igneus* provocó un aumento significativo de superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa, vitamina A, vitamina C, vitamina E y glutatión reducido y, por tanto, podría ser eficaz para reducir el estrés

oxidativo y las enfermedades mediadas por radicales libres. La propiedad antioxidante de esta planta puede deberse a la presencia de sustancias fenólicas. Los extractos metanólico de flor y tallo de *Costus igneus* poseen actividad antioxidante in vitro contra el daño oxidativo de las proteínas. Entre los extractos probados, el extracto de cloroformo de *Costus igneus* la corteza poseía una alta actividad antioxidante. La administración oral de extracto etanólico de rizoma de *Costus igneus* a 200 mg/kg de peso corporal a ratas diabéticas durante 30 días indujo un efecto antioxidante significativo.¹⁸ El compuesto bioactivo quercetina y diosgenina presente en la planta exhibió actividad antioxidante, que fue suficiente para revertir el estrés oxidativo en el hígado, páncreas y riñón de ratas diabéticas, así como para estimular las enzimas glucolíticas y controlar la gluconeogénesis en animales diabéticos.¹⁷

2.2.2. Estrés oxidativo

Es el desequilibrio de las células debido a la producción del aumento de radicales libres y/o una disminución en los antioxidantes.¹ En consecuencia, al producirse la oxidación de biomoléculas, se tiene una pérdida de las funciones biológicas produciendo un daño oxidativo a nivel de tejidos y células.²⁰

Por ende, implica al incremento de enfermedades crónicas no transmisibles, por lo cual da paso a la devastación de moléculas tóxicas,²⁰ para luego dar lugar al aumento de la concentración celular y, así ayudar en la reparación o reconstruir las estructuras biológicas dañadas.²¹

Frente a este enigmático tema de salud se ve como una disyuntiva a diversas fuentes donde se concentra sustancias antioxidantes naturales, de la misma forma implica a realizar investigaciones, siendo una de ellas *Costus igneus* “Insulina”, la cual en estudios *in vitro* en donde ha demostrado presentar alto potencial anti oxidativo.

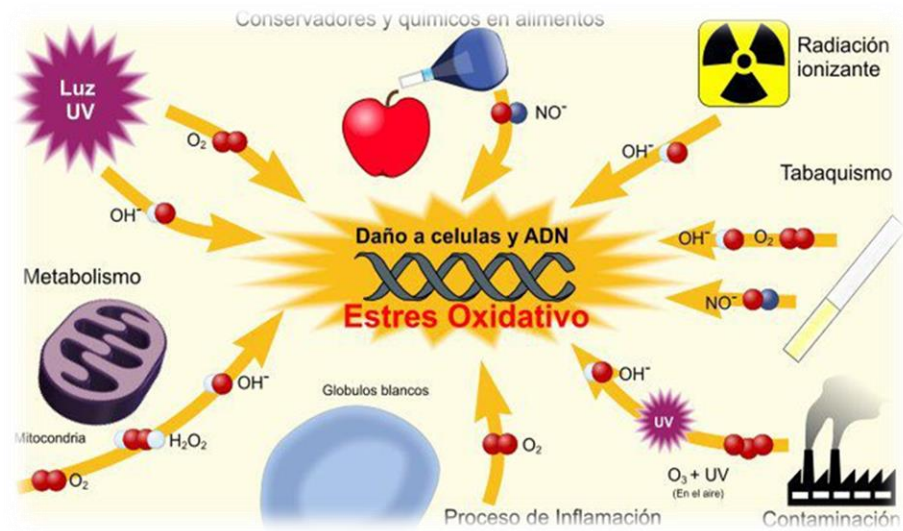


Figura 9: Proceso del estrés oxidativo.

Fuente: Pineda D, Lázaro R y Malanim C (1999). Capacidad Antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. Rev. Cubana Aliment Nutr. 13[2]: 104-111.²¹

2.2.2.1. Producción de radicales libres y oxidación

De acuerdo con la teoría, los radicales libres son el resultado del daño celular, que conduce a la alteración del metabolismo, teniendo aquellas moléculas en las que poseen un electrón desapareado o impar en su orbital más extrínseco; que producen cambios químicos ya sea en su estructura celular en lo cual disminuye el sostenimiento de la vida.^{9,22}

Como se determina el planeta es uno de los más ricos en la posesión de oxígeno lo cual es uno de los elementos químicos más abundantes de

nuestro sistema, por tal razón tiene una formación de ciertos compuestos inorgánicos y orgánicos, de los cuales presentan diversas reacciones de forma natural que pueden ser espontáneas o directas, o en cambio presentar procesos biológicos para el ser humano.²²

Es así que se tiene en cuenta que esto puede producir un gran deterioro a los lípidos, proteínas y los ácidos nucleicos conociendo su vida corta de dichas moléculas donde se da una reacción en cadena.^{23,24}

Según Zamora (2007), encuentra una clasificación en los radicales libres en la cual los más resaltantes son los que se muestran a continuación:²⁶

- **Inorgánicos:** Es la transferencia que da un electrón hacia el oxígeno, en las cuales se encuentran distintos estados de reducción de aniones superóxidos, el óxido nítrico e el radical hidroxilo, mientras tanto estos grupos se caracterizan por tener una vida media o muy corta.²⁶
- **Orgánico:** Cuentan con dos estilos de transporte un electrón primario a una molécula orgánica, o así mismo por una reacción de dos radicales primarios entre sí, dentro de este género se encuentran el carbono, oxígeno, azufre y nitrógeno el cual son un poco mayor a la vida media.²⁶

La formación de radicales libres (RL) se da por diversas estructuras en las cuales pueden ser: extracelular e intracelular. Teniendo así el aprendizaje a nivel intracelular comprenden las células tales como neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos y las células endoteliales; ciertas enzimas tales como: xantina-oxidasa, la indolamindioxigenasa, la triptófano-di-oxigenasa, la mieloperoxidasa, la galactosa oxidasa, la ciclooxigenasa, la lipoxigenasa, la monoamino-

oxidasa y la Nicotinamida Adenina–Dinucleótido–fosfato oxidasa (NADPH oxidasa).²⁵ En cambio al obtener una formación a nivel extracelular se da a través de un encuentro de principios externos tales como: paracetamol, tetracloruro de carbono y furosemida, aun así puede causar algunos contaminantes como el humo de cigarrillos, las radiaciones ionizantes, la luz solar y entre otros.²⁵

Por ende, si los radicales libres aumentaran apresuradamente esto podría ocasionar el famoso “estrés oxidativo”, Desmarchelier (1998) define a este fenómeno como la inestabilidad entre las velocidades de producción, que al mismo tiempo provoca un asolamiento de las moléculas tóxicas, mejor dicho, es la razón que da a lugar a un incremento de concentración de los radicales libres a nivel celular.²⁶

Finalmente, al afectar y dañar a las principales moléculas del cuerpo, toma una presión oxidativa de modo que es sumamente sensible y este refleja cantidades excesivas en los lípidos y proteínas de las cuales son oxidadas, no obstante, esto refleja una mutación del ADN mitocondrial.²³

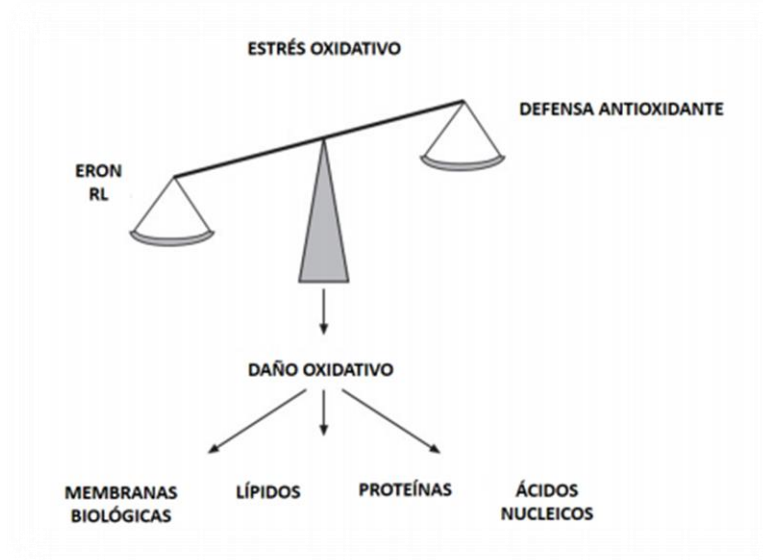


Figura 10: Interacción de los radicales libres.

Fuente: Zamaro S. Antioxidantes Micronutrientes en Lucha por La Salud. Revista Chilena de Nutrición 34 (1): 17-26.²³

2.2.2.2. Antioxidantes

Son composiciones que impiden la oxidación de un cuerpo por las mismas reacciones oxidantes que pueden existir.¹¹ También se le conoce como la inhibición que propaga la oxidación de las moléculas, las cuales se les atribuye cualidades preventivas y curativas.^{21,27}

Por otra parte, los antioxidantes son los que previenen o disminuyen el deterioro funcional del organismo de modo que se origina por el aumento del exceso del estrés oxidativo evitando el daño de los RL a la célula.²¹

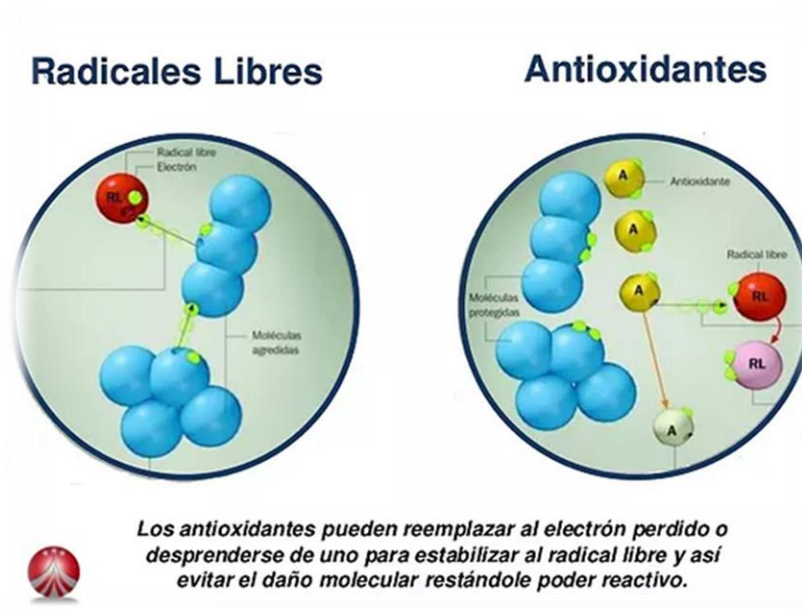


Figura 11: Transformación de los radicales libres.

Fuente: González MC, Betancourt R y Muñiz R. Daño Oxidativo y Antioxidantes. Bioquímica 25 (1): 3-9.²¹

Por consiguiente, los antioxidantes presentan diferentes formas de actuar frente a los RL, éstas pueden ser: ²¹

- Sistema de prevención: Interceptan la generación de RL o especies reactivas.
- Sistema barredor: Inhiben la acción de los RL.
- Sistema de reparación: Ayudan en la compostura y reorganización de las estructuras biológicas dañadas.

a. Clasificación de los antioxidantes:

- **Antioxidantes sintéticos**

Son los más aprovechados en la industria farmacéutica en el área de cosméticas, en parte alimentaria para humanos y animales puesto que

posee grasas y aceites que son altamente solubles en este caso el más representativo es el ácido gálico, butilhidroxitoluol, butilhidroxianisol y el terbutilhidroxiquinona.

- **Antioxidantes naturales**

En este grupo encontraremos diferentes antioxidantes naturales, se clasificará por cada función que se da al organismo:²⁸

- **Sistema de defensa de los antioxidantes**

La especie humana presenta una experiencia en la inestabilidad en sus exposiciones de tal forma llegan a existir ciertos mecanismos en el resguardo para así enfrentar el daño que puede sufrir la célula ante estas especies reactivas. Teniendo una interpretación donde existen dos tipos de sistemas de defensa, siendo estos: sistema de defensa antioxidante enzimático y sistema de defensa antioxidante no enzimático.²⁷



Figura 12: Antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.

Fuente: Pineda D, Lázaro R, Malanim C (1999). Capacidad Antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. Rev. Cubana Aliment Nutr. 13[2]: 104-111.²⁷

Por consiguiente, al proteger las enzimas antioxidantes tienen una primera línea donde se impide el acaparamiento de especies reactivas de oxígeno catalizando dichas transferencias donde el electrón ceda un sustrato hacia los radicales libres, dentro de este grupo hallamos el superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa. Por otro lado, el sistema de defensa antioxidante no enzimático se puede hallar compuestos como la bilirrubina y la albúmina, vitamina C, flavonoides entre otros.²⁸

Tabla 3: Función de los antioxidantes enzimáticos.

ANTIOXIDANTES	LOCALIZACIÓN	FUNCIÓN FISIOLÓGICA
Superóxido Dismutasa	Citoplasma y mitocondria	Desproporciona radicales superóxido dismutasa.
Glutatión Peroxidasa	Citoplasma y mitocondria	Descarta el peróxido de hidrogeno para dar seguimiento a los hidroperóxidos orgánicos
Catalasa	Citoplasma y mitocondria	En este aspecto la catalasa suprime el peróxido de hidrogeno.

Fuente: Pineda D, Lázaro R, Malanim C (1999). Capacidad Antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. Rev. Cubana Aliment Nutr. 13[2]: 104-111.²⁰

Tabla 4: Función de antioxidantes no enzimáticos.

ANTIOXIDANTE NO ENZIMÁTICO	FUNCIÓN FISIOLÓGICA
VITAMINA E	Uno de los más presentes en la membrana celular.
VITAMINA C	Causa que los radicales libres sean eliminados, para luego ser reciclador de la vitamina E.
ACIDO ÚRICO	Tiene el efecto de suprimir los radicales hidroxilos.
GLUTATIÓN	Efecto de defensa de la actividad antioxidante celular.
ACIDO LIPÓICO	Antioxidante eficiente, y es sustituto del glutatión.
CAROTENOIDES	Antioxidante de lípidos.
BILIRRUBINA	Tiene la utilidad de metabolizar el grupo hemo, y así tener un efecto antioxidante a nivel extracelular.
UBIQUINONAS	Derivado de las quinonas lipídicas solubles, que tienen efecto eficaz como antioxidante.

Fuente: Pineda D, Lázaro R, Malanim C (1999). Capacidad Antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. Rev. Cubana Aliment Nutr. 13[2]: 104-111.²⁰

2.2.2.3. Compuestos fenólicos

Son polifenoles o fenoles que consisten en un grupo de sustancias que poseen un anillo aromático con uno o más hidroxilos debido a lo cual es una opción estructural que adquiere propiedades especiales. Es así que contiene una alta disolubilidad en agua que abarca el 9,3%, en comparación con los alcoholes de la misma cantidad de carbonos.^{35,36}

Mientras tanto, su misma naturaleza varían en ciertas moléculas polimerizadas de los cuales el más específico son los taninos, conllevando así que los “daños oxidativos” pueden ser protegidos por los fenoles que tienen una de las mismas funciones en el organismo.³⁵

Por ende, dichos compuestos se relacionan con la cualidad sensorial de los alimentos, que comprenden la evaluación organoléptica de un alimento o materia prima.³⁵ Por tal motivo son los responsables de las antocianinas ya que contribuyen a la pigmentación de distintos vegetales del cual cumple un notable papel en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer, diabetes; a sus efectos antiinflamatorios y mejoramiento de la perspicacia visual y comportamiento cognitivo. Por lo tanto, además de su papel funcional como colorantes, las antocianinas son agentes potenciales en la producción de productos con valor agregado para el consumo humano.³⁶

2.2.2.4.Reacciones colorimétricas de identificación

A. Determinación de taninos

a. Prueba de Tricloruro férrico

Permite la determinación de compuestos fenólicos, este fenómeno tiene como explicación la formación de complejos entre el hierro y los iones fenólicos formados por el sustrato de hidrógeno del grupo hidroxilo; por tal motivo los átomos de cloro de la sal de hierro dan lugar al cambio de color es por ende que se visualiza una coloración que se clasifica según la FDA en:⁴⁰

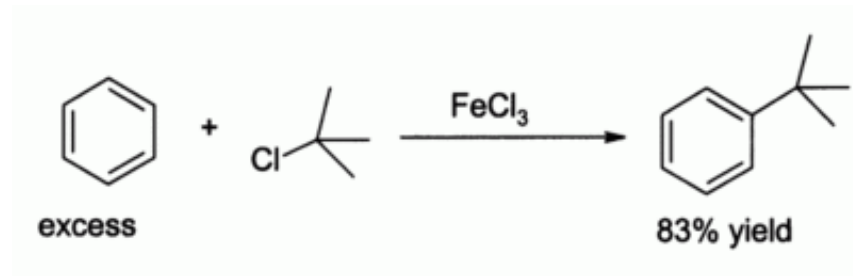


Figura 13: Reacción de la prueba de tricloruro férrico.

Fuente: Zamaro S. Antioxidantes Micronutrientes en Lucha por La Salud. Revista Chilena de Nutrición 34 (1): 17-26.²⁶

- **Interpretación de la reacción:**⁴⁰

- **Color**

Verde claro (*): Compuestos fenólicos en general.

Verde intenso (**): Taninos de tipo pirocatecólicos.

Azul (***) : Taninos de tipo piro-galotánicos.

- **Intensidad**

Incoloro (-)

Color Escaso (+)

Color Leve (++)

Color Moderado (+++)

Color Intenso (++++)

B. Determinación de flavonoides

a. Prueba de Shinoda

Permite la determinación de flavonoides que contengan en su estructura un núcleo benzopirona como las flavonas, flavonoles, flavanonas, etc. Producen coloraciones rojizas cuando a sus

disoluciones acuosas o alcohólicas. Se adiciona magnesio seguido de ácido clorhídrico (HCl) concentrado.³⁹

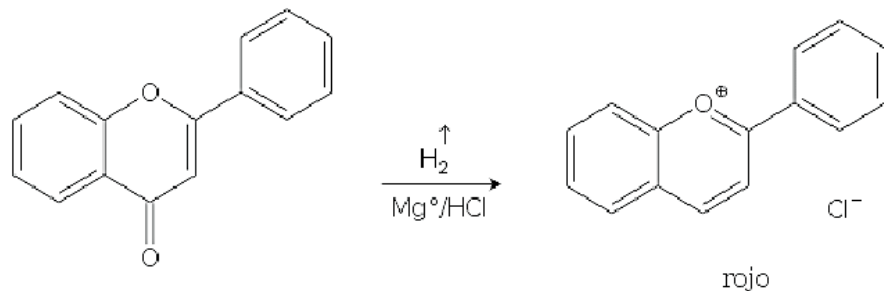


Figura 14: Reacción de la prueba de Shinoda.

Fuente: Zamaro S. Antioxidantes Micronutrientes en Lucha por La Salud. Revista Chilena de Nutrición 34 (1): 17-26.²⁶

- **Interpretación de la reacción³⁹**

- **Color:** Anaranjado

- **Intensidad**

Incoloro (-)

Color Escaso (+)

Color Leve (++)

Color Moderado (+++)

Color Intenso (++++)

2.2.2.5. Método del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

Este método fue descrito por: Brand-Williams W (1994),^{32,34} en él explica que el DPPH es un radical orgánico, nitrogenado estable, en donde se fundamenta en la reducción que experimenta el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil por parte de los antioxidantes que exteriorizan la muestra a

analizar para modificar en el DPPH estable; esto se debe a su simplicidad y alta sensibilidad.³³

En consecuencia, esto es factible la identificación de la variación de color que se da conduciendo de morado o violeta (radical DPPH) al color amarillo (DPPH estable), y esto es predispuesto en longitud de onda de 515 ó 517 nm.³⁴ En este método se utiliza el patrón de referencia Trolox (análogo sintético a la vitamina E).

Este sistema no es característico para un tipo de metabolito por lo que se puede especificar que mide capacidad antioxidante total.³⁴ Por otro lado, es un sistema que se da en solventes como el metanol, etanol que son fuertes aceptores de hidrógeno, lo cual es prototipo en la extracción de los taninos condensados de “Insulina”. Años más tarde se introdujo un parámetro nuevo, el C50, el cual es la ración de antioxidante que se requiere para reducir en 50% la cantidad inicial del radical.³⁵

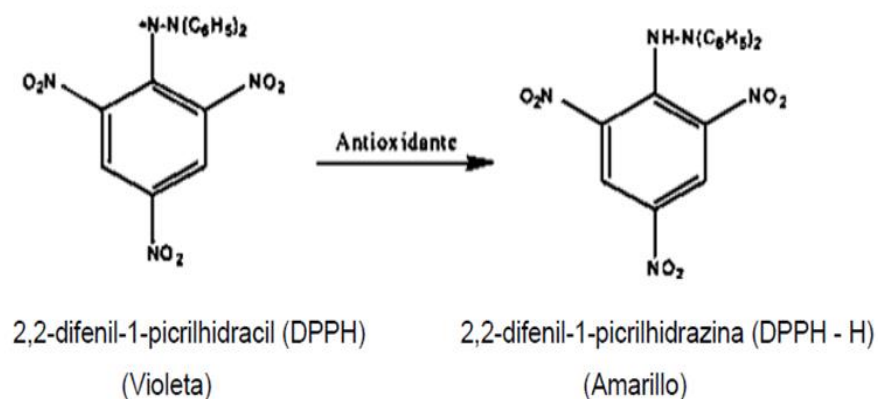


Figura 15: Reacción del DPPH y coloración.

Fuente: Brand - Williams, W, Cuvelier M y Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie* 28 (1995): 25-30.³⁵

2.2.3. Trolox

El trolox o ácido 6 - hidroxí - 2,5,7,8 - tetrametilcroman - 2 - carboxílico, un análogo hidrosoluble del alfa - caroteno y se utiliza para reducir el daño por estrés oxidativo.^{34,35}

2.3. Definición de términos básicos

- **Aglucones:** Es un compuesto sin azúcares por el cual un átomo es reemplazado por un grupo glicósido, a un grupo glucósido.³⁴
- **Antioxidantes:** Es la inhibición o retardación de la oxidación de moléculas.³⁴
- **Extracto metanólico:** Líquido obtenido mediante destilación por arrastre de alcohol de la parte de la planta aromática que contienen las glándulas secretoras de esencia.³⁰
- **Quelar:** Sustancia que forma complejos con iones de metales pesados, conocidos comúnmente como quelatos.²⁷
- **Radical libre:** Desde un punto de vista químico, un radical libre es cualquier especie que contenga a lo menos un electrón desapareado en su orbital más externo, y que sea a su vez capaz de existir en forma independiente.³⁴
- **Trolox:** Análogo de la vitamina E, sumamente utilizado en las aplicaciones biológicas, bioquímicas para inhibir el daño oxidativo.³⁵

III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Unidad de análisis, universo y muestra

3.1.1. Unidad de análisis

Extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”.

3.1.2. Universo

Hojas de *Costus igneus* “Insulina”, cultivadas en Jaén, provincia de Cajamarca, departamento de Cajamarca.

3.1.3. Muestra

Dieciocho (18) gramos de hojas de *Costus igneus*, cultivadas en Jaén, provincia de Cajamarca, departamento de Cajamarca.

- **Criterios de inclusión**

- Hojas de la especie *Costus igneus* “Insulina”.
- Hojas libres de microorganismos.
- Hojas de plantas maduras.

- **Criterio de Exclusión:**

- Hojas maltratadas o afectadas con alguna enfermedad (hongos, bacterias, etc.).
- Hojas secas o de un color amarillento.
- Hojas demasiado pequeñas.

3.2. Métodos de investigación

La investigación fue de nivel descriptivo y se hizo uso del método inductivo – deductivo, para partir de varias premisas particulares y llegar a una conclusión general.

3.2.1. Tipo de investigación

a. De acuerdo al fin que se persigue.

La investigación de acuerdo al fin que persigue fue de tipo **básica**, pues tuvo como finalidad la obtención y recopilación de datos, para construir y/o corroborar una base de discernimiento que se va agregando a la información preliminar existente.

b. De acuerdo a la técnica de contrastación.

La investigación fue de tipo **experimental**, pues se manipuló una o más variables experimentales no comprobadas, en este caso se hizo uso de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”, en circunstancias rigurosamente controladas, con el fin de describir un efecto en las unidades de experimentación. El estudio se realizó en el Laboratorio

Multifuncional de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo.

3.3. Técnicas de investigación

3.3.1. Recolección, selección y secado de las hojas *Costus igneus* de “Insulina”

La recolección de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”, se realizó en la provincia de Jaén, departamento de Cajamarca; ubicada a 729 m s.n.m. cuyas coordenadas geográficas son -5.7072902 y longitud -78.8078537, en el hemisferio sur. Se recolectó a primeras horas de la mañana, un total de 500 g de hojas de insulina, las cuales fueron acomodadas en una caja de cartón precisamente rotulada y cubiertas con papel kraf, fueron trasladadas al Laboratorio Multifuncional (L - 202) de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo. Una vez en el laboratorio se procedió a seleccionar y limpiar las hojas de “insulina” con agua corriente e hipoclorito sódico al 1%, y finalmente el lavado con agua destilada; dejando secar a temperatura ambiente por un lapso de veintitrés días.

3.3.2. Características Organolépticas de las hojas de “Insulina”

Mientras la muestra seca, se determinaron las propiedades organolépticas de estas, con el fin de asegurar las condiciones óptimas para preparar los extractos.

3.3.3. Obtención del extracto metanólico de las hojas de *Costus Igneus* “Insulina”

Una vez que estuvieron secas las hojas, se procedió al pulverizado de la muestra, primero con la ayuda de un mortero y pilón y luego atravesando el polvo grueso por un tamiz N° 20 para obtener un polvo fino. Para la preparación del extracto metanólico se pesaron 5 g, 10 g y 20 g de la muestra pulverizada y se colocaron en distintos matraces debidamente rotulados, adicionando 100 mL de metanol en cada uno. Luego de un proceso de maceración a temperatura ambiente utilizando un agitador magnético a 400 rpm por dos días, se obtuvieron extractos al 5 %, 10 % y 20 %.

Una vez transcurrido el tiempo, se filtró con ayuda de un embudo y apósito de gasa, para apartar las impurezas. Obteniéndose de esta manera el extracto metanólico a distintas concentraciones. Finalmente, se envasó en los frascos de color ámbar, se rotularon y almacenaron hasta su análisis.

3.3.4. Determinación de flavonoides con la prueba de Shinoda.

En tres tubos de ensayo se colocaron 2 mL de cada una de las diferentes concentraciones del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”, se adicionó algunas granallas de magnesio metálico a cada uno, 0,3 mL de ácido clorhídrico concentrado y finalmente 2 ml de alcohol amílico, dejando reposar por 10 minutos. Luego de este tiempo se anotó la coloración observada.

3.3.5. Determinación de taninos con la prueba de tricloruro férrico al 1%

En tres tubos de ensayo se agregó 1mL del cada una de las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”, luego se le agregó 3 gotas de cloruro férrico al 1% y se observó la coloración que adquirió.

3.3.6. Determinación de la capacidad antioxidante del extracto metanólico *Costus Igneus* “Insulina” por el método del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

La actividad antioxidante fue valorada en términos de capacidad atrapadora del radical DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo), para el extracto metanólico de las hojas de Insulina, se realizó el siguiente procedimiento:^{32,33,34}

a. Preparación de las soluciones.

- La solución metanólica de DPPH fue preparada con 25 µg del reactivo en 25 mL de metanol.
- Los grupos patrón, control y problema fueron preparados de la siguiente manera:
 - **Grupo patrón (Solución de trolox):** Se preparó pesando 12,5 mg del reactivo de trolox y agregando 25 mL de metanol.
 - **Grupo control (Solvente: metanol):** Se utilizó metanol puro.
 - **Grupo problema:** Estuvo conformado por las distintas concentraciones de extracto metanólico de las hojas de *Costus Igneus* “Insulina”, al 5%, 10% y 20%.

3.3.7. Sistema de trabajo para el ensayo de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

Se armó un sistema de 5 tubos como se muestra a continuación, todos los sistemas se trabajaron por triplicado:

Tabla 5: Método del DPPH – reactivos a colocar

Tubo	Cantidad de reactivos y muestras.					
	DPPH (µL)	Trolox (µL)	Metanol (µL)	EMI 5% (µL)	EMI 10% (µL)	EMI 20% (µL)
Blanco	1000					
Patrón	960	40				
Control	960		40			
Problema 1	960			40		
Problema 2	960				40	
Problema 3	960					40

Se prepararon los tubos usando cada reactivo como indica la tabla 5 y seguidamente se llevó a baño maría a 37° por 30 minutos, pasado este tiempo se condujo a leer las absorbancias a longitud de onda de 517 nm. Una vez obtenidas estas absorbancias se asignó la siguiente fórmula para hallar el porcentaje de inhibición del radical DPPH de cada uno de los grupos ensayados.

$$\% \text{ captación de radicales} = \frac{A-B}{A} * 100$$

Dónde:

A= Absorbancia del blanco.

B= Absorbancia de las muestras.

3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos

3.4.1. Instrumentos

- Ficha de recolección de datos.
- Microsoft Excel y SPSS.

3.4.2. Equipos

- Balanza analítica Modelo Marca Ohaus Adventurer y Modelo ARO640.
- Baño maría, Marca Brand y Modelo 652 31229 × 240 - 14k.
- Espectrofotómetro, Marca VIS UNICO y Modelo S-1200-Genesys.
- Refrigeradora, Marca Coldex y Modelo TA04Y07EXB0.
- Agitador magnético.

3.4.3. Materiales

Materiales de vidrio y de uso frecuente en el laboratorio Multifuncional de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo.

3.4.4. Reactivos

- DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), Laboratorio: Spectrum.
- Metanol químicamente puro.
- Trolox(R)-(+) -6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico.
- Cinta de magnesio.
- Tricloruro férrico al 1%.
- Ácido clorhídrico químicamente puro.

- Alcohol amílico.

3.5. Técnicas de análisis de datos

Los datos logrados fueron procesados en el Programa Estadístico Statistical Package for the Social Sciences (IBM - SPSS) versión 25,0 y fueron manifestados en los gráficos correspondientes, la técnica estadística a emplear fue el análisis de varianza (ANOVA), que ayudó para comparar el promedio de los resultados de todos los grupos de estudio y una prueba post hoc (Tukey) que compara el promedio grupo por grupo. Se consideró el intervalo de confiabilidad del 95 % y como valores de p:

- $p \leq 0,05$ significativo.
- $p < 0,01$ medianamente significativo.
- $p < 0,001$ muy significativo.
- $p > 0,05$ como no significativo.

3.6. Aspectos éticos de la Investigación

De acuerdo a la resolución N° 8430 de 1993 que establece las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en humanos, Artículo 11, éste estudio se clasifica como “investigación sin riesgo”: “Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquellos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada de las variables biológicas, fisiológicas, psicológicas o sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran: revisión de historias clínicas,

entrevistas, cuestionarios y otros en los que no se le identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta”.

Basado en Principio de Beneficencia:

- Principio de Autonomía.
- Principio de Justicia.
- Identificado con la equidad.
- Principio de no maleficencia. "Primum non nocere" primero no hacer daño. Se recogerá la información.

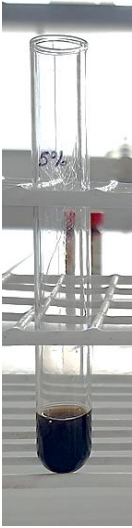


IV. RESULTADOS

Tabla 6: Clasificación organoléptica de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”.

CARACTERISTICAS	RESULTADOS
COLOR	Verde oscuro
OLOR	Tabaco
SENSACION DEL TACTO	Suave al tacto
HOMOGENEIDAD	Homogéneo libre de particulas




Fuente: Elaborado por las tesisistas

Tabla 7: Resultado de la identificación de taninos.

REACCIÓN	TANINOS (coloración verde oscuro)		
	Extracto metanólico de <i>Costus igneus</i> “Insulina” al 5%	Extracto metanólico de <i>Costus igneus</i> “Insulina” al 10%	Extracto metanólico de <i>Costus igneus</i> “Insulina” al 20%
FeCl ₃ 1%	 +++	 ++++	 ++++

Leyenda: (++++) Abundante; (+++) Moderado; (++) Leve; (+) Escaso; (-) Nulo.
Modelo de tabla adecuado al patrón positivo de comparación establecido por la Federal Drug Administration (FDA)

Tabla 8: Resultado de la identificación de flavonoides.

REACCIÓN	FLAVONOIDES (coloración anaranjada - rojiza)		
	Extracto metanólico de <i>Costus igneus</i> “Insulina” al 5%	Extracto metanólico de <i>Costus igneus</i> “Insulina” al 10%	Extracto metanólico de <i>Costus igneus</i> “Insulina” al 20%
Shinoda			
	++	++++	++++

Leyenda: (++++) Abundante; (+++) Moderado; (++) Leve; (+) Escaso; (-) Nulo.
Modelo de tabla adecuado al Patrón positivo de comparación establecido por la Federal Drug Administration (FDA).

Tabla 9: Porcentaje de la captación de radicales libres en el extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”.

Grupo	Absorbancia Promedio a 517 nm	Captación de radicales libres (%)
Blanco	0,305	-
Patrón: (Trolox)	0,003	99,02
Control: (Metanol)	0,174	43,06
Problema 1: (EMI al 5%)	0,078	74,41
Población 2: (EMI al 10%)	0,054	82,30
Problema 3: (EMI al 20%)	0,006	98,03

Leyenda: EMI: Extracto Metanólico de Insulina.

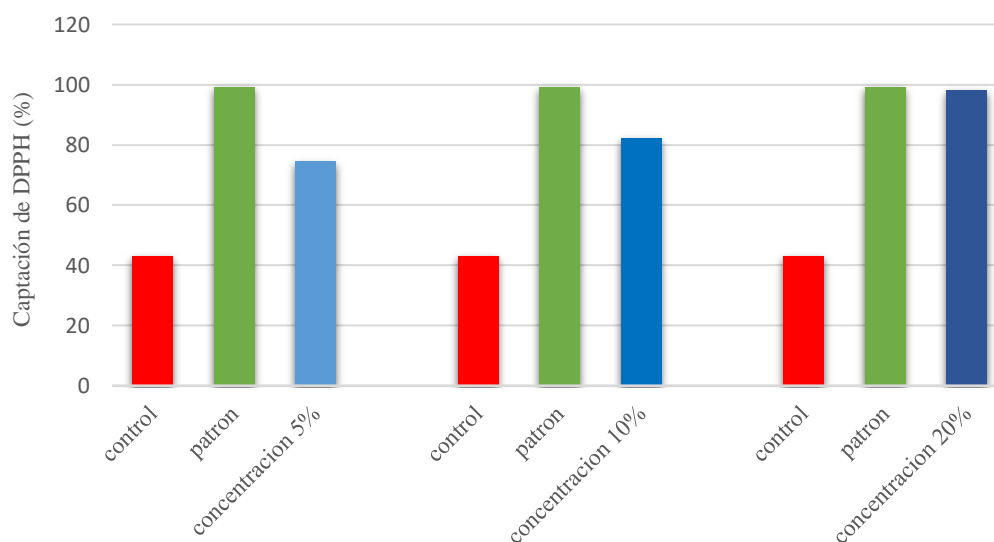


Gráfico 1: Porcentaje de captación de radicales libres en las diferentes concentraciones 5%,10% y 20% del extracto metanólico de las hojas de *Costus Igneus* “Insulina”.

Interpretación: En la tabla 9 se observa el porcentaje de captación del DPPH y en el gráfico 1 se muestra cada uno de los porcentajes de la concentración frente al control y al patrón.

Tabla 10: Significancia estadística de acuerdo a la prueba estadística Anova para las concentraciones: 5%, 10% y 20% del extracto metanólico de las hojas de *Costus Igneus* “Insulina”.

ANOVA					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6397,384	4	1599,346	848,30	0,000
Dentro de grupos	18,853	10	1,885	9	
Total	6416,237	14			

Fuente: Programa estadístico ANOVA, donde $p < 0,005$ es significativo y $p > 0,005$ no es significativo.

Tabla 11: Significancia Estadística de acuerdo a la prueba estadística post hoc Tukey para el control, patrón, concentración al 5%, 10% y 20% del extracto metanólico de las hojas de *Costus Igneus* “Insulina”.

Comparaciones múltiples

(I) Datos	(J) Datos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Patrón	Control	56.56333*	1.12111	0,000	52.8737	60.2530
	Concentración 5%	25.63667*	1.12111	0,000	21.9470	29.3263
	Concentración 10%	17.08000*	1.12111	0,000	13.3903	20.7697
	Concentración 20%	1.15000	1.12111	0,838	-2.5397	4.8397
Control	Patrón	-56.56333*	1.12111	0,000	-60.2530	-52.8737
	Concentración 5%	-30.92667*	1.12111	0,000	-34.6163	-27.2370
	Concentración 10%	-39.48333*	1.12111	0,000	-43.1730	-35.7937
	Concentración 20%	-55.41333*	1.12111	0,000	-59.1030	-51.7237
Concentración 5%	Patrón	-25.63667*	1.12111	0,000	-29.3263	-21.9470
	Control	30.92667*	1.12111	0,000	27.2370	34.6163
	Concentración 10%	-8.55667*	1.12111	,000	-12.2463	-4.8670
	Concentración 20%	-24.48667*	1.12111	0,000	-28.1763	-20.7970
Concentración 10%	Patrón	-17.08000*	1.12111	0,000	-20.7697	-13.3903
	Control	39.48333*	1.12111	0,000	35.7937	43.1730
	Concentración 5%	8.55667*	1.12111	0,000	4.8670	12.2463
	Concentración 20%	-15.93000*	1.12111	0,000	-19.6197	-12.2403
Concentración 20%	Patrón	-1.15000	1.12111	0,838	-4.8397	2.5397
	Control	55.41333*	1.12111	0,000	51.7237	59.1030
	Concentración 5%	24.48667*	1.12111	0,000	20.7970	28.1763
	Concentración 10%	15.93000*	1.12111	0,000	12.2403	19.6197

Fuente: Paquete estadístico para ciencias sociales (SPSS). *La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

Interpretación: En la tabla 10 se contempla la significancia estadística de acuerdo al programa estadístico ANOVA el extracto metanólico de las hojas de *Costus Igneus* “Insulina”, en la tabla 11 se presenta la significancia estadística de acuerdo a la prueba estadística Post-hoc Tukey que permite hacer una comparación múltiple entre grupos.

V. DISCUSIÓN

En definitiva, la presente investigación se determinó la actividad antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”, objetivo que genera gran interés para el área de ciencia de la salud, ya que abre la puerta a una posible solución natural para dar respuestas de ciertas enfermedades crónicas en las cuales nos permite enfrentar el problema del estrés oxidativo.⁸

La muestra vegetal se recolectó de la provincia de Jaén del departamento de Cajamarca, a partir de esta se prepararon tres extractos metanólicos al 5 %, 10 % y 20 % y se realizaron los ensayos de cloruro férrico y Shinoda para identificar ciertos metabolitos secundarios. Siendo así los resultados demostraron la presencia de taninos y flavonoides, tal como se muestra en las tablas 7 y 8 ayudándonos específicamente en ciertos principios activos encontrados en las hojas de *Costus igneus* “Insulina” los cuales son los flavonoles y las catequinas específicamente estos dos metabolitos nos ayudaran ya que las catequinas de las hojas de *Costus igneus* “Insulina” inhiben las P450 monooxigenasas, in vivo, algunas de las isoenzimas del sistema P450, enzimas de fase II y de tipo antioxidante.¹⁰

Resumiendo lo planteado para la identificación de metabolitos secundarios mediante la coloración se utilizó un sistema de cruces dependiendo de la presencia y concentración cualitativa del metabolito identificado, este sistema está basado en un modelo de patrón positivo de comparación establecido por

la Food and Drug Administration (FDA), teniendo la siguiente leyenda: (++++)
color intenso; (+++) color moderado; (++) color leve; (+) color escaso; (-)
incolore. A fin de determinar colorimétrica los resultados, se observó que el
color verde claro, indica que tiene baja o nula cantidad de taninos; verde
oscuro, indica un contenido medio de taninos y azul negro indica un alto
contenido de taninos.⁴⁰

Es así que en la **tabla 7** corresponde a la identificación de taninos en el extracto
metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina” se evidencia como
resultado que las hojas de insulina, es un tipo de reacción ácido – base de
Lewis, siendo un donador de electrones a un catecol del tanino, formando así
cargas parciales para su posterior eliminación de átomo de hidrogeno y cloruro
hasta llegar a formar complejos de coloración es así que evidentemente a una
concentración al 5% tiene un color verde claro; donde nos indica que contiene
compuestos fenólicos en general en una baja cantidad, teniendo una intensidad
moderada (+++), en comparación a las concentraciones del 10% y 20% que
resulta un color verde oscuro indicándonos la presencia de taninos
pirocatecolicos, conllevando una intensidad más abundante (++++). Es así que
al resultar esta evidencia positiva que tiene presencia de taninos condensados,
siendo la respuesta a que se debe al ataque producido por el ion cloruro de
hidrógeno del grupo hidroxilo provocando una ruptura del enlace y la unión
del grupo fenóxido al hierro donde se evidencia una coloración verde oscura.
Teniendo así la simple finalidad de proteger los tejidos de la acción de los
radicales libres debido al añejamiento celular.³⁹

Mientras tanto **Reddy J et al (2018)**⁶, investigó el artículo científico denominado el “Análisis cromatológico de fitoquímicos en *Costus igneus* y estudios computarizados de flavonoides”, Además de inhibir la activación de procarcinógenos, algunos flavonoides también pueden actuar capturando el mutágeno o interponiéndose entre éste y su diana de actuación. La eficacia inhibitoria varía según el tipo de mutágeno frente al que actúen y dependerá, por un lado, de la estructura química del flavonoide y, por otro, de la polaridad de la molécula. Es así que las hojas de insulina mediante esta técnica se adaptan por la Catedra de Farmacognosia; en donde nos permite certificar nuestro estudio.

Similarmente, en la **tabla 8**, correspondiente a la identificación de flavonoides del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina” mediante la reacción de Shinoda, lo cual indica que, en su mayor parte, se encuentra en su forma heterósidos, teniendo una baja polaridad. Se obtuvo como resultado que la “Insulina” a concentración del 10% y 20% presenta un color rojo intenso (++++), identificando a los flavonoles, en cambio a concentración del 5% el color de esta reacción tiene menor intensidad (++)⁵, siendo la identificación de las flavonas.

Si bien es cierto que, la reacción de Shinoda, el magnesio es oxidado por el ácido clorhídrico concentrado, dando como producto hidrógeno, que es eliminado de forma de gas y el MgCl₂, que es el que forma complejos con los

flavonoides dando coloraciones características. El magnesio divalente, actúa sobre el grupo carbonilo de dos flavonas y así se produce la coloración roja, este aumenta la intensidad debido a que el magnesio divalente intensifica la coloración por estar doblemente coordinado. Esta prueba se hace para reconocer flavonoides los cuales son anillos de γ - benzopirona que reacciona en presencia de ácido clorhídrico y magnesio.⁶

Las afirmaciones anteriores sugieren que, *Costus igneus* “Insulina” presenta diversas propiedades de las cuales tienen composiciones fitoquímicas; concluyentemente son los flavonoides y taninos de tipo pirocatecolicos, a través de estos métodos cualitativos permitió observar las diferentes coloraciones positivas que puede presentar las hojas de insulina en el presente estudio procedente de la provincia de Jaén. Así en consecuencia para cerrar esta la idea, los taninos se pueden aprovechar en los sistemas alimentarios para beneficiar la nutrición y la salud humana, con aplicaciones tecnológicas para aportar compuestos específicos o ejercer funciones concretas teniendo como ejemplo, la reducir el impacto calórico de los alimentos en personas diabéticas. Los taninos se utilizan también para mejorar la calidad de los alimentos.¹²

De igual maneras para la determinación de la actividad antioxidante se utilizó el método de captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Los resultados mostraron que la actividad antioxidante es directamente proporcional a la concentración del extracto metanólico. Por tal motivo en la **tabla 9 y gráfico 1** se muestra el porcentaje de captación de radicales libres de

DPPH el cual a concentraciones de 5%,10% y 20% son de 74,41%, 82,30% y 98,03% respectivamente, de acuerdo con estos resultados coinciden por lo nombrado en el estudio de **Victoria A et al (2008)**⁷, denominado “Estudios sobre la actividad antioxidante del extracto de hojas de *Costus Igneus* “Insulina” en el cual el extracto de la planta mostró una actividad de 75,43% en la potencia reductora en comparación con el trolox, que mostró un 91,94%, a una concentración de 16 µg/ml. En ese mismo contexto **Báez C (2007)**⁹, en su estudio “Potencial antioxidante y citotóxico de extractos de hojas de *Costus igneus*” sostiene que el extracto de hoja de *C. igneus* a una concentración de 150 µg/ml mostró la mayor actividad citotóxica en la línea celular de cáncer con una viabilidad celular del 65,51%, de dicho estudio se concluyó que el *C. igneus* muestra actividad antioxidante eficiente, así como actividad citotóxica y podría actuar como seguro y rentable con posibles aplicaciones biológicas.

De modo similar, los resultados de la actividad antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina” cultivadas en Jaén, muestran que posee capacidad para neutralizar radicales libres. Si comparamos entre los porcentajes obtenidos con la muestra vegetal y los obtenidos con el patrón nos confirma que es significativa de acuerdo a lo mostrado por el análisis de varianza (ANOVA) al haber obtenido un valor p de 0,000.²²

La importancia de estos resultados también se centra en los fundamentos científicos que explica la actividad de la especie *Costus igneus* “Insulina”, pues son los metabolitos secundarios, como los taninos y los flavonoides, quienes

son responsables directos de su potencial como medicina alternativa. En otras palabras, dichos metabolitos, como en el caso de los taninos, están formados por estructuras que combinan azúcares y fenoles (glucósidos), que le dan una buena absorción y al mismo tiempo su potencia terapéutica respectivamente; son de sabor astringente, teniendo la propiedad de producir precipitación de ciertas macromoléculas (proteínas, alcaloides). Los taninos se disuelven en agua formando una separación coloidal, siendo solubles también en acetonas y alcoholes.²⁵

Teniendo en cuenta a **Velázquez P, Bertha G y Contreras R (2004)**²⁵, hace mención que “los taninos están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, específicamente en las hojas y tallos, cuya función es proteger a la especie vegetal de heridas que pueden sufrir o evitar en el ingreso de microorganismo que pueden causarle daño”, es así que al tener presencia de taninos nos ayuda en una amplia acción cicatrizante que posee las hojas de *Costus igneus* “Insulina”.²⁵

Es incuestionable que los taninos vegetales tienen una gran utilización para precipitar proteínas; que contiene propiedades de acción terapéutica, empleándolos como las decocciones, empleadas para las quemaduras, hemorroides, sangrados pequeños, etc. Interiormente, son utilizados contra el enfriamiento intestinal, diarreas y ayuda como contraveneno en caso de intoxicación de alcaloides vegetales.²⁴

Concretizando, en la presente investigación se demuestra que los taninos también están involucrados en la actividad antioxidante ya que poseen estructuras polifenólicas. De igual forma, son grupos químicos caracterizados por poseer uno o varios grupos hidroxilo unidos mediante un enlace covalente a un anillo bencénico y entre las características que le dan al compuesto que las contiene están una ligera acidez, solubilidad tanto en agua como en compuestos apolares y una gran variedad de aplicaciones terapéuticas.²⁵

De cualquier manera, los flavonoides tienen en su estructura química hidroxilos fenólicos los cual poseen propiedades de quelación de hierro y ciertos metales los cuales ayudan a la transición de la capacidad antioxidante y la eliminación de los radicales libres. Cabe destacar que, ayudan a la acción de los efectos antiinflamatorios, antivirales o antialérgicos, teniendo un papel protector frente al cáncer y algunas enfermedades cardiovasculares, de tal manera que, algunos antioxidantes poseen acciones de sustancias químicas como los prooxidantes de las cuales inducen al estrés oxidativo, lo cual inhiben la formación de los antioxidantes, esto solo puede ser ocasionado a ciertas dosis altas.²⁵ Es así que la ingesta de flavonoides diaria es de 23mg/día, el cual se adquiere a través de la dieta.²⁴

De acuerdo con el fundamento químico de la actividad antioxidante de los hidroxilos fenólicos de estas estructuras podría estar determinada por la capacidad que tienen estos grupos para ceder electrones a los radicales libres y auto estabilizarse gracias a la resonancia del anillo bencénico que tienen; esta

estabilidad pasajera puede contribuir a la formación de fenóxidos y después a sales que son fácilmente eliminadas.

Los flavonoides se los consideran como antioxidantes y secuestradores de radicales libres, agentes antimicrobiales y anti nutricionales, fotoreceptores y protectores contra la luz UV, de igual importancia tiene su acción farmacológica como espasmolítico, anti hepatotóxica, actividad antimicrobiana y acción fungitóxica. Siendo los principales metabolitos las antocianinas, las flavonas, los flavonoles.³³

Hasta ahora, en la actualidad la poca accesibilidad de los habitantes para un sistema de salud es muy disminuida por las condiciones económicas, es así que se tiene una ventana de ayuda en el uso de las plantas medicinales con encuentros preventivos de algunas afecciones o síntomas. Dentro de las cuales encontramos una fuente muy productiva como *Costus igneus* “Insulina”, siendo una utilidad natural del Perú, con propiedades anti oxidativas, cicatrizantes, antiinflamatorias e hipoglucemiantes lo cual se transforma en un producto industrializable y exportable.³³ Evidentemente los resultados obtenidos se puede motivar a los estudiantes y docentes el valor y la importancia de las plantas oriundas de la provincia de Jaén y a la vez hacer estudios más relevantes donde la población pueda disponer de fitofármacos rigurosamente estudiados.³⁴

VI. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se puede concluir que:

- Se determinó la actividad antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”, por medio del método captación del radical 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) teniendo mayor actividad (98,03%) se obtuvo a una concentración de 20% y la menor actividad (74,41%) se logró a concentración de 5%.
- Se concluye en la investigación realizada sobre el extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”, presentan compuestos fenólicos (ensayo de cloruro férrico positivo), y presentan flavonoides (ensayo de Shinoda positivo) de acuerdo a lo que nos indica la FDA.
- Se evaluó la actividad antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”, mediante el método captación del radical 2,2-difenil1-picrilhidrazilo (DPPH), encontrándose que, si posee actividad antioxidante, mediante la técnica estadística empleada de la ANOVA que ayudo a la comparación de resultado mediante la prueba de TUKEY.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios comparativos con otras plantas de nuestra región para determinar aspectos en su actividad antioxidante, y así fomentar más información de los diversos beneficios que posee la planta de Insulina.
- Llevar a efecto estudios profundizados sobre los Fito-compuestos con actividad antioxidante de *Costus igneus* “Insulina”, para formular medicamentos con actividad antioxidante.
- Evaluar la actividad antioxidante del extracto metanólico *Costus igneus* “Insulina” in vivo en el tratamiento de enfermedades degenerativas como el cáncer, diabetes, artritis, etc.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Céspedes T y Sánchez D. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia suplementaria. Revista cubana de cardiología y cirugía cardiovascular, 14 (1), 55-60. [Internet]. 2014. [citado 2019 octubre 19]. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf
2. Matos A, Paredes J y González L. Determinación de la Capacidad Antioxidante de los Compuestos Fenólicos del Sancayo (*Corryocactus brevistylus*). Ciencia y Tecnología de Alimentos. 2010; 1(1)-6. p.
3. Harini A, Prakash, Hegde L, Kumar S, Rao NP. Macro-microscopy and TLC atlas of leaves of *Costus igneus* Nak. Journal of Ayurveda Medical Sciences. 1, 2016, 5-11.
4. Williams B, Cuvelier ME y Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie 28 (1995): 25–30.
5. Dávila R. Determinación de taninos, vitamina C y capacidad antioxidante en las hojas de insulina. Tesis para optar el grado de Magíster. Especialidad

de Tecnología de alimentos. Escuela de Post Grado UNALM. 2003. Lima – Perú.

6. Peasari J, Motamarri S, Varma K y Ravindra A. Chromatographic analysis of phytochemicals in *Costus igneus* and computational studies of flavonoids. *Informatics in Medicine Unlocked*. [Internet]. 2018. [citado 2019 setiembre 26]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352914818301436>

7. Amador V, Morón FJ, Brito G y Bolougne I. Estudios sobre la actividad antioxidante del extracto de hojas de *Costus Igneus*. 13(4). 2008 [Internet]. 2018. [citado 2019 setiembre 30]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/238105144_Titulo_Tamizaje_fit_oquimico_actividad_analgésica_y_antiinflamatoria_de_decoccion_de_Costus_igneus_D_Don

8. Patil S y Ahuja M. Perfil de nutrientes y componentes antioxidantes de *Costus speciosus* Sm. y *Costus igneus* Nak. 2019. Departamento de biotecnología de la india. [Internet]. 2019. [citado 2019 octubre 10]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/333686852_Phytochemical_Analysis_and_Antibacterial_Determination_of_Costus_Igneus_Leaves

9. Baez C. Potencial antioxidante y citotóxico de extractos de hojas de *Costus igneus* en un modelo animal. México: Registro en la Red Mexicana de Repositorios Institucionales; 2007. [Internet]. 2019. [citado 2019 octubre 10]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/333686852_Potencial_Analysis_and_antioxidante_citotoxico_of_Costus_Igneus_Leaves
10. Zavaleta J, Muñoz A, Blanco T, Alvarado C y Loja B. Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. Miembros del Centro de Investigación en Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina Humana. 2006; 12 p.
11. Pérez L, Chávez K., Medina Á y Meza G. compuestos fenólicos, melanoidinas y actividad antioxidante de café verde y procesado de las especies *Coffea arabica* y *Coffea canephora*. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, (21 de diciembre de 2013); XV (1), 06.
12. Córdova J. Uso y utilización de plantas medicinales en universidades de Lima. Pontificia universidad católica del Perú. Lima. [Internet]. 2009. [citado 2019 abril 01]. Disponible en: file://C:/Users/Usuario/Downloads/CORDOVA_RENGIFO_JAVIER_USO_UTILIZACION.pdf

13. Salvador CAÑIGUERAL et al, 2003 Cátedra de Farmacognosia. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín, 956 - 2º piso. 1113 Buenos Aires (Argentina). [Internet]. 2019. [citado 2019 octubre 19]. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf
14. Ayanar M e Ignacimuthu S: Conocimiento tradicional de las tribus Kani en Kouthalai de las colinas Tirunelveli, Tamil Nadu, India. Revista de Etnofarmacología 2005; 102: 246-55.
15. Saraswathi R, Upadhyay L, Venkatakrisnan R y Devi RM: aislamiento y evaluación biológica de esteroides del tallo de *Costus igneus* . J Chem Pharm Res 2010; 2 (5): 444-48
16. Eevera T, Pazhanichamy K, Pavithra S, Rubini S, Lavanya B, Ramya I. Análisis morfológico, anatómico y próximo de hoja, raíz, rizoma de *Costus igneus* . Revista Int Pharm Res. 2010; 3 : 747–52.
17. Harini A Prakash, Hegde L, Kumar S, Rao N P. Macro-microscopy and TLC atlas of leaves of *Costus igneus* Nak. Journal of Ayurveda Medical Sciences. 1, 2016, 5-11.

18. Reddy PJ, Sri MS, Varma KS, Anitha P y Potti RB: análisis cromatográfico de fitoquímicos en *Costus igneus* y estudios computacionales de flavonoides. *Informática en medicina desbloqueada*. 2014; 13: 34-40.
19. Devi VD, Urooj A. Potencial de hipoglucemia de *Morus indica*. L y *Costus igneus*. *Nak: un estudio preliminar*. *Indian J Exp Biol*. 2008; 46: 614-6.
20. PINEDA, d; Lázaro, R; MALANIM C. (1999). “Capacidad Antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos”. *Rev. Cubana Aliment Nutr*. 13[2]: 104-111.
21. DESMARCHELLER, C.; CICCIA, G. (1998). “Antioxidantes de origen vegetal”. *Ciencia Hoy*. 8(44).
22. Lehninger, Albert L. *Bioquímica: Las Bases Moleculares de la Estructura y Función Celular*. Primera Edición. Barcelona: Ediciones Omega, S.A., 1976.
23. González Torres, María C., Miguel Betancourt Rule, y Rocío Ortiz Muñiz. «Daño Oxidativo y Antioxidantes.» *Bioquímica* 25, N.º 1 (enero-marzo 2000): 3-9.

24. Madhavi, D. L., S. S. Deshpande, y D. K. Salunkhe. «Introduction. » Cap. 1 de Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives Food Science and Technology, de D. L. Madhavi, 1-4. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996.
25. Velázquez P., Mireya, Bertha Prieto G., y Rocío Contreras P. «Envejecimiento y los Radicales Libres.» Revista Ciencias 75 (Julio-setiembre 2004.): 36-43.
26. Zamaro S., Juan Diego. «Antioxidantes Micronutrientes en Lucha por La Salud.» Revista Chilena de Nutrición 34, N.º 1 (marzo, 2007): 17-26.
27. Elejalde Guerra, J. I. «Estrés Oxidativo, Enfermedades y Tratamientos Antioxidantes.» Anales Medicina Interna 18, N.º 6 (2001): 326-335.
28. MURILLO, E. (2002). “Principales Antioxidantes de los alimentos”. Memoria del Seminario Taller Vitaminas, Antioxidantes y salud. Panamá.
29. DÁVILA, R. (2003). “Determinación de taninos, vitamina C y capacidad antioxidante en las hojas de insulina”. Tesis para optar el grado de Magíster. Especialidad de Tecnología de alimentos. Escuela de Post Grado UNALM. Lima – Perú.

30. CAO, G., SOFIC, E. y PRIOR, R. (1996). "Antioxidant Capacity of tea and Cammon Vegetables, J. Agric. Food Chem. Vol 44(II)", pp. 3426-3431.
31. VÁSQUEZ, A. CALA M. MIRANDA I. TAFURTO, G. MARTINEZ, J.. "Actividad Antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de salvia aratoncesis, salvia sachenris, Biodens reptons y Montanoa ovalifolio". Rev. Cient. Año XIII N° 23, UTP, ISSN 0122-1701. Universidad Industrial de Santander.
32. FUKELI, T. y FRANCIS, F. (1968). Quantitative Methods for Anthocyanin in Cramberries. J. Food. Sel. Vol 33 pp. 72-77.
33. Brand Williams, W., M. E. Cuvelier, y C. Berset. «Use of free radical method to evaluate antioxidant activity.» Lebensmittel Wissenschaft und Technologie 28 (1995): 25–30.
34. Cao, Guohua, Helaine M. Alessio, y Richard G. Cutler. «Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants.» Free Radical Biology and Medicine 14, n° 3 (Marzo 1993): 303-311.
35. Barja de Quiroga, Gustavo. Radicales Libres y Antioxidantes. Boletín del Curso de Biología Animal II, Departamento de Biología Animal II, Facultad de Biología de la Universidad Complutense de Madrid, Madrid: Departamento de Biología Animal II, 2003.

36. MARTINEZ-VALVERDE, I., PERIAGO, M. J., ROS, G. (2000).
“Significado Nutricional de los Compuestos Fenólicos en la Dieta”. En
archivos latinoamericanos de nutrición. Vol 50. p.p. 5-18.
37. Vermerris, Wilfred, y Ralph Nicholson. Phenolic Compound Biochemistry.
Primera Edición. Dordrecht: Springer, 2006.
38. Chien Hao, Chen, Wu Ming Chang, Hou Chih Yao, Jiang Chii Ming, Huang
Chi Ming, y Wang Yuh Tai. «Effect of Phenolic Acid on Antioxidant
Activity of Wine and Inhibition of Pectin Methyl Esterase.» Journal of the
Institute of Brewing 115, nº 4 (2009): 328-333.
39. FELIPE, M., POZUELO, M. (2005). “Flavonoides, Isoflavonoides y Salud”.
Revista Científica – Murcia.G
40. Watts, B; Ylimaki, G. 2001. Métodos sensoriales básicos para la evaluación
de alimentos (en línea). s.l. p 54. Consultado 24 jul. 2018. Disponible en
https://www.academia.edu/5193414/M%C3%A9todos_sensoriales_b%C3%A1sicos_para_la_evaluaci%C3%B3n_de_alimentos

ANEXOS

ANEXO N° 01

FÓRMULA UTILIZADA PARA DETERMINAR EL PORCENTAJE DE CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES POR EL MÉTODO 2,2 DIFENIL-1- PICRILHIDRAZIL (DPPH) DEL EXTRACTO METANOLICO DE LAS HOJAS DE *Costus igneus* “Insulina”

$$\% \text{ captación} = \frac{A-B}{A} * 100$$

Donde:

A= Lectura del DPPH

B= Lectura de los extractos metanólicos

Porcentaje de captación de patrón, concentración al 5%, concentración al 10% y concentración al 20%

- **Patrón:**

$$\% \text{ captación} = \frac{0.305 - 0.003}{0.305} * 100$$

$$\% \text{ captación} = 99.02\%$$

- **Concentración al 5%:**

$$\% \text{ captación} = \frac{0.305 - 0.078}{0.305} * 100$$

$$\% \text{ captación} = 74.41\%$$

- **Concentración al 10%:**

$$\% \text{ captación} = \frac{0.305 - 0.054}{0.305} * 100$$

$$\% \text{ captación} = 82.30\%$$

- **Concentración al 20%:**

$$\% \text{ captación} = \frac{0.305 - 0.006}{0.305} * 100$$

$$\% \text{ captación} = 98.03\%$$

ANEXO N° 2

GALERÍA FOTOGRÁFICA

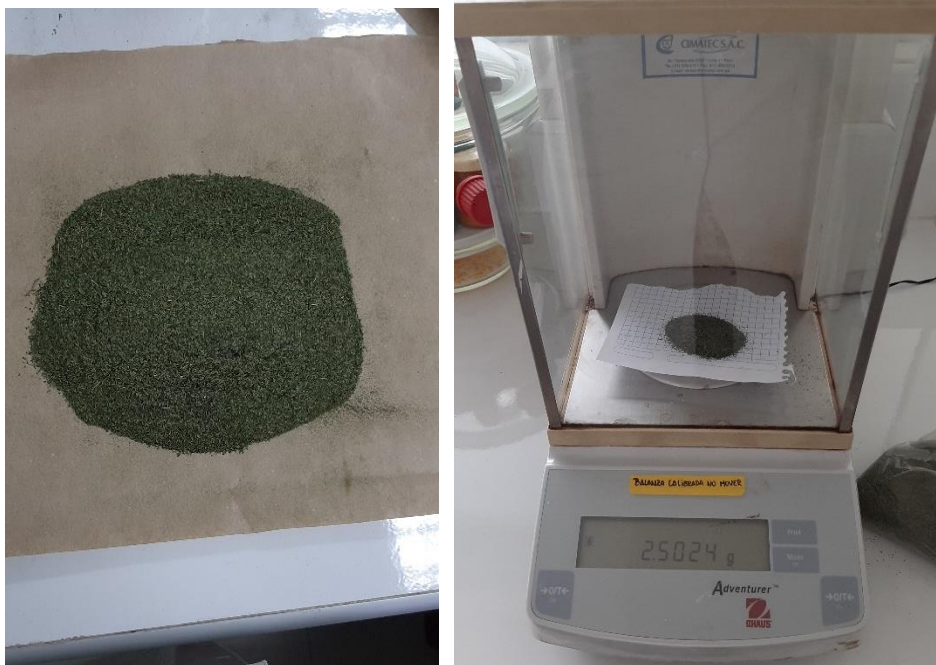


Fotografía 1. Recolección de la muestra de las hojas de *Costus igneus* “Insulina”.

Fotografía 2. Limpieza de la muestra vegetal.



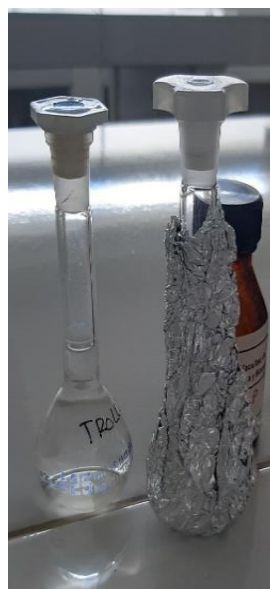
Fotografía 3. Lavado final de la muestra vegetal con hipoclorito al 1%.



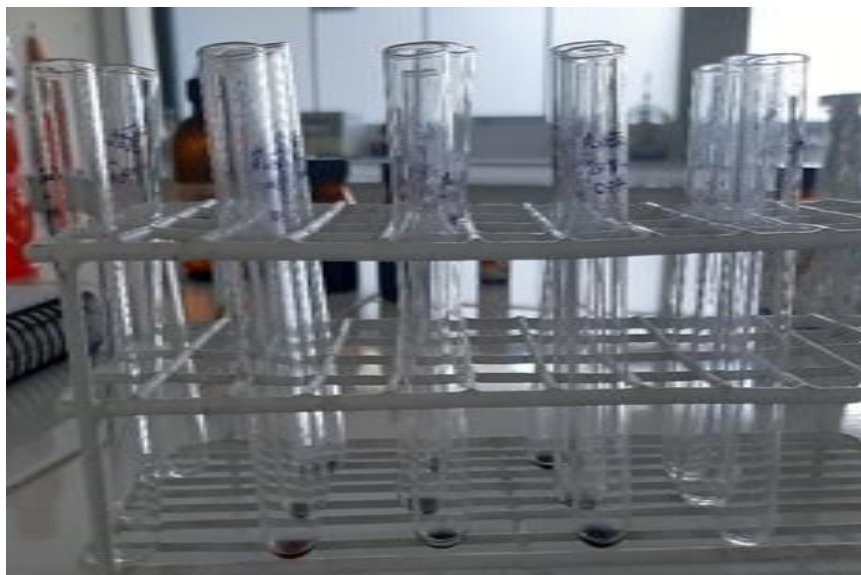
Fotografía 4. Pulverización y pesado de la muestra vegetal.



Fotografía 5. Agitación y finalización de la muestra vegetal a diferentes concentraciones 5%, 10% y 20%.



Fotografía 6. Preparación del DPPH, trolox.

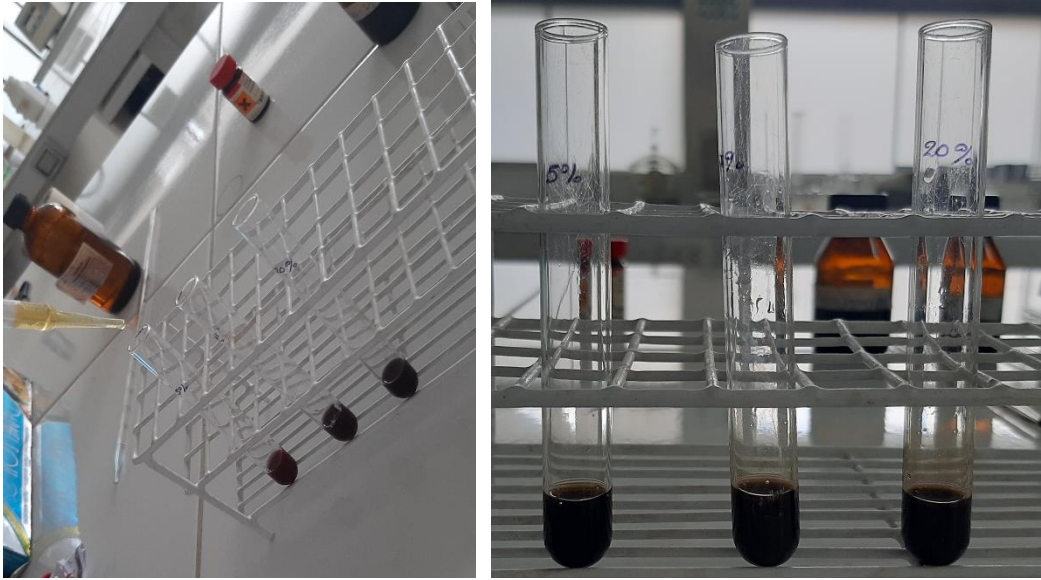


Fotografía 7. armado del sistema para trabajar el ensayo de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).



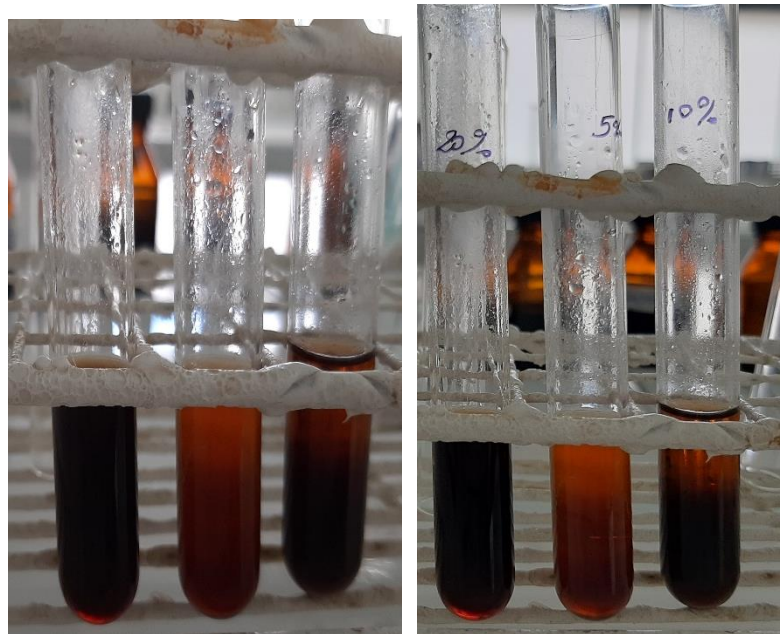
Fotografía 8. Determinación de la capacidad antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *Costus igneus* “Insulina” por el método del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).

Fotografía 9. Determinación de Taninos.



Fotografía 10. Resultados de la determinación de taninos.

Fotografía 11. Determinación de Flavonoides.



Fotografía 12. Resultados de la determinación de flavonoides.