



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

**EFFECTO ANTIINFLAMATORIO *IN VITRO* DEL EXTRACTO
METANÓLICO DEL LÁTEX DEL *FICUS INSIPIDA* (OJÉ) SOBRE
LA ESTABILIZACIÓN DE LA MEMBRANA DE LOS ERITROCITOS**

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

AUTORES:

Bach. APAZA IPANAQUÉ, MANUEL ÁNGEL
Bach. VERÁSTEGUI LEGUA, NATALY MILAGROS

ASESOR:

Mg. BAUTISTA CRUZ, NELSON

Lima – Perú

2021

DEDICATORIA

A mi familia, que siempre creyeron en mis fortalezas y habilidades para desempeñarme de manera óptima en la elaboración del presente trabajo, A mi madre, abuelo y hermanos por el apoyo, la comprensión y por ayudarme a reconocer mis errores para ser mejor persona cada día, A mis maestros por los consejos y enseñanzas para la vida profesional y así aportar de manera íntegra a nuestra sociedad. Y sobre todo a mi padre que fue un pilar importante en mi vida universitaria y para la elección de esta hermosa carrera, dedicarle todo mi esfuerzo reflejado en este presente trabajo, sé que desde el cielo estará orgulloso de mis logros.

APAZA IPANAQUÉ, MANUEL ANGEL

A mis padres que siempre confiaron, me motivaron a seguir mis sueños y me brindaron el apoyo con mis estudios, a mis hermanos que a pesar de tanto momentos difíciles siempre estuvieron ahí para mi brindándome alegrías, a mi tío Daniel que sin su apoyo no pudiera haber logrado mis objetivos académicos y de los cuales estoy muy agradecida y a mi familia en general, que siempre me alentó a seguir adelante a pesar de cada obstáculo que se pueda cruzar en mi camino, a todos ellos les dedico este trabajo con mucho cariño.

VERÁSTEGUI LEGUA, NATALY MILAGROS

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios en primer lugar por darnos salud para poder culminar este trabajo de investigación en este contexto tan difícil como la pandemia, a nuestros familiares por brindarnos su apoyo incondicional, a nuestros profesores por sus enseñanzas, dedicación y por brindarnos los conocimientos necesarios para permitirnos utilizarlos en este trabajo, a nuestro asesor Mg. Nelson Bautista por su paciencia y constante seguimiento para finalizar con éxito y aprendizaje nuestro trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	9
II. MATERIALES Y MÉTODOS	12
II.1. Enfoque y diseño de investigación.....	12
II.2. Población, muestra y muestreo.....	13
II.3. Variables de investigación	13
II.4. Técnica e instrumento para la recolección de datos	13
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos.....	13
II.6. Procesamiento de los análisis estadísticos.....	16
II.7. Aspectos éticos.....	16
III. RESULTADOS	17
IV. DISCUSIÓN	24
IV.1. Discusión de resultados.....	24
IV.2. Conclusiones	25
IV.3. Recomendaciones	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
ANEXOS	33
Anexo A: Instrumento de recolección de datos	33
Anexo B: Matriz de consistencia	35
Anexo C: Operacionalización de las variables.....	36
Anexo D: Certificado de identificación botánica del <i>Ficus insípida</i> (Ojé).....	37
Anexo E: Evidencias fotográficas del trabajo de campo	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Marcha fitoquímica del Extracto Metanólico del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé)	17
Tabla 2: Absorbancia del control, indometacina y los extractos metanólicos del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé).....	18
Tabla 3: Resumen estadístico para absorbancias de los tratamientos.....	19
Tabla 4: Tabla ANOVA para absorbancia por tratamientos.....	19
Tabla 5: Pruebas de múltiples rangos para absorbancia por tratamientos según LSD	20
Tabla 6: Resumen estadístico para % de hemólisis	21
Tabla 7: ANOVA para % de hemólisis por tratamientos	21
Tabla 8: Pruebas de múltiples rangos para % de hemólisis por tratamientos según LSD	21
Tabla 9: Resumen estadístico para % de protección.....	22
Tabla 10: ANOVA para % de protección por tratamientos.....	22
Tabla 11: Pruebas de múltiples rangos para % de protección por tratamientos según LSD.....	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Reacción química para el reconocimiento de grupos sulfhidrilos.....	15
Figura 2: Resultado de grupos sulfhidrilos del extracto metanólico del látex <i>Ficus insípida</i> (Ojé)	18
Figura 3: Relación de las absorbancias con las concentraciones de los extractos metanólicos del látex de <i>Ficus insípida</i> (Ojé)	19
Figura 4: Porcentaje de hemólisis para cada tratamiento	20
Figura 5: Porcentaje de protección (estabilidad) frente a la hemólisis para los tratamientos.....	22
Figura 6: Árbol del <i>Ficus insípida</i> (Ojé)	38
Figura 7: Recolección del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé)	38
Figura 8: Decantación y centrifugación del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé).....	39
Figura 9: Sobrenadante y desecación del extracto del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé)	39
Figura 10: Extracto seco del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé).....	39
Figura 11: Resultados de la marcha fitoquímica del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé)	40
Figura 12: Extracción de sangre venosa y lavado de glóbulos rojos.....	40
Figura 13: Preparación de las muestras para la lectura al espectrofotómetro UV-Vis	41
Figura 14: Muestras analizadas por el espectrofotómetro UV-Vis a 560nm.....	41

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto antiinflamatorio *in vitro* del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé) a través de la técnica de estabilización de la membrana de los eritrocitos frente a la hemólisis.

Métodos: La obtención del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé) se realizó mediante la técnica de decantación con metanol, luego se centrifugó para obtener la fase metanólica y se sometió a la desecación. El efecto antiinflamatorio fue evaluado mediante el método de estabilización de la membrana de los eritrocitos; para el ensayo se preparó el extracto metanólico con solución isosalina al 0.9% en concentraciones de 10, 50, 100 y 200 µg/mL, como control positivo se utilizó indometacina a una concentración de 100 µg/mL y como control negativo el agua destilada; tanto los controles y las soluciones de las muestras se agregaron en tubos conteniendo una solución de cloruro de sodio al 0.36% tamponado y a cada tubo se agregó una suspensión de eritrocitos al 10% y se incubó a 37°C por 30 minutos. Para la determinación del porcentaje de protección frente a la hemólisis, se realizó la lectura de las absorbancias a cada tratamiento en el espectrofotómetro de UV-VIS a 560 nm.

Resultado: El mayor porcentaje de protección del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé) fue de 62.36% a una concentración de 200 µg/mL superando ligeramente el 59.06% de la indometacina.

Conclusiones: El extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé), presentó actividad antiinflamatoria, siendo el porcentaje de protección de los eritrocitos directamente proporcional con la concentración del extracto.

Palabras claves: *Ficus insípida*, efecto antiinflamatorio, alcaloides, aminoácidos, cistein-proteasa, ficina

ABSTRACT

Objective: To evaluate the in vitro anti-inflammatory effect of the methanolic extract of the latex of *Ficus insipida* (Ojé) through the erythrocyte membrane stabilization technique against hemolysis.

Methods: Obtaining the methanolic extract from the latex of *Ficus insipida* (Ojé) was carried out by means of the decantation technique with methanol, then it was centrifuged to obtain the methanolic phase and was subjected to drying. The anti-inflammatory effect was evaluated by the erythrocyte membrane stabilization method; For the test, the methanolic extract was prepared with isosaline solution 0.9 % in concentrations of 10, 50, 100 and 200 µg / mL, indomethacin at a concentration of 100 µg / mL was used as a positive control and distilled water as a negative control; both the controls and the sample solutions were added in tubes containing a 0.36% buffered sodium chloride solution and each had a 10% erythrocyte suspension was added, it was incubated at 37°C for 30 minutes. To determine the percentage of hemolysis protection, the absorbances were read at each treatment in the UV-VIS spectrophotometer at 560 nm.

Result: The highest percentage of protection of the methanolic extract of *Ficus insipida* (Ojé) latex was 62.36% at a concentration of 200 µg / mL, slightly exceeding 59.06% of indomethacin.

Conclusions: The methanolic extract from the latex of *Ficus insipida* (Ojé) presented anti-inflammatory activity, the percentage of protection of erythrocytes being directly proportional to the concentration of the extract

Key words: *Ficus insipida*, anti-inflammatory effect, alkaloids, amino acids, cysteine protease, ficin.

I. INTRODUCCIÓN

La inflamación es un mecanismo de respuesta del organismo ante un estímulo, sucede en el tejido conjuntivo vascularizado generando cambios a nivel de los vasos sanguíneos, cambios celulares, y producción de mediadores químicos de la inflamación¹.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la artritis reumatoide (AR), es una enfermedad inflamatoria que constituye un problema de salud pública. La prevalencia global de esta enfermedad es casi el 1%, es una inflamación sistémica mortal; la mortalidad de los pacientes es de 52 % por accidentes cerebro vasculares², asimismo, se estima que tiene un impacto sobre 5 de cada 1000 adultos³. España posee una incidencia del 0,5 %, siendo más prevalente en mujeres y en áreas urbanas, teniendo una incidencia al año de 8,3 casos por cada 100.000 en personas mayores de 16 años⁴. En Canadá, la (AR) tiene un impacto de 0,5 a 1,0% sobre su población⁵. Por otro lado en Sudamérica, una encuesta colombiana de un total de 6693 personas, el 64% padecían de AR, los síntomas característicos fueron los dolores en las rodillas con un 35%, manos con un 26%, columna lumbar con un 20% y hombros un 16%⁶. En el Perú, un trabajo reportó una incidencia de AR de un 0,51%, mientras que en otro estudio reportó un 0,32%⁷. Según el Instituto Nacional de Salud (INS) se estima que existe una prevalencia que oscila entre 0,5% y 1,27%³. Se desconoce la causa para esta enfermedad, genera un proceso inflamatorio extendido, siendo característico la inflamación de las membranas sinoviales, lo cual genera la hipertrofia del tejido sinovial provocando el desgaste del cartílago. Debido a que esta enfermedad se ocasiona por la ruptura de las membranas lisosomales, los fármacos utilizados no tienen mayor efecto, ya que solo se utilizan para calmar los síntomas. Asimismo, es preciso que los tratamientos farmacológicos son prolongados, lo cual provoca costos elevados y la presencia de severos efectos adversos como problemas cardiovasculares, gastrointestinales, renales o hepáticos; en consecuencia los pronósticos de una hospitalización o deceso por un efecto adverso gastrointestinal relacionado al uso de medicamentos es de 1,3% y el 1,6%⁸⁻⁹. Es por ello la necesidad de estudiar los recursos naturales, así como el látex del *Ficus insípida* (Ojé) para enfrentar dichas enfermedades inflamatorias.

Con el presente trabajo se buscó verificar el conocimiento popular sobre el efecto antiinflamatorio del látex, para lo cual se realizó el ensayo *in vitro* del efecto antiinflamatorio del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé). Estos resultados servirán de base para continuar con estudios posteriores *in vivo* del efecto antiinflamatorio, asimismo, servirá para evaluar otros posibles efectos farmacológicos. Según la bibliografía, el *Ficus insípida* conocido comúnmente como Ojé en Perú¹⁰, es originaria Mesoamérica, Norteamérica y Sudamérica¹¹, crece en la Amazonía peruana entre los 100-1800 msnm¹². Es un árbol de unos 15-20 m de alto¹³, el látex se usa tradicionalmente como antirreumático, antihelmíntico, hematopoyético. Los metabolitos encontrados en el *Ficus insípida* (Ojé) son los siguientes: ficina, taninos, flavonoides, quinolinas, aminoácidos, entre otros¹⁴. La ficina es una enzima proteolítica obtenida del látex, esta es una de las proteasas vegetales muy reconocidas según la familia de las moráceas¹⁵. Dicha enzima pertenece al grupo de las tiol proteasas y es muy similar a la papaína¹⁶; tanto la papaína, bromelina y ficina poseen propiedades antiinflamatorias¹⁷. Si bien es cierto, la inflamación es una respuesta de los organismos a diferentes agresiones, se destaca por cinco signos clínicos: rubor, calor, dolor, tumor e impotencia funcional¹⁸. Las enfermedades reumáticas (ER) constituyen un importante problema de salud, se estima acerca de 100 enfermedades que afectan a jóvenes y adultos con diferente intensidad, las más frecuentes como la artritis idiopática, la fibromialgia, el lupus eritematoso sistémico y la fiebre reumática¹⁹. Epidemiológicamente las ER, se presenta en pacientes femeninas con 50 años de edad en adelante²⁰. La AR se caracteriza por afectar en especial articulaciones de manos y pies, es reportada como la más frecuente seguido de la osteoartritis y se cataloga entre las 10 principales causas de discapacidad en el mundo. Finalmente, el control efectivo de la inflamación por los fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FAME) o las terapias combinadas de FAME y glucocorticoides retrasa el daño estructural en la AR²¹. Muchas investigaciones dejan en evidencia el posible efecto antiinflamatorio del látex del *Ficus insípida* (Ojé).

Carranza J (2018), evaluó el efecto antiinflamatorio de un gel a base de la corteza del *Ficus pertusa*, para ello utilizaron el test del edema plantar por carragenina obteniendo resultados favorables, los resultados muestran una relación concentración-tiempo en cuanto al resultado de porcentaje de inhibición²².

Cueva Z, et al (2020), evaluaron el efecto antiinflamatorio del gel a base del látex del *Ficus obtusifolia*, usaron el test del edema subplantar por carragenina en ratas hembras cepa Holtzman y obtuvieron resultados significativos al 3%, superior al diclofenaco 1%²³.

Mayhua D y Avendaño A (2018), estudiaron el efecto antiinflamatorio del extracto alcohólico de hojas de *Morus nigra L*, mediante el método del edema plantar inducido por carragenina, se obtuvo un resultado significativo a dosis de 500 y 1000mg/kg, demostrando un mejor resultado a dosis de 1000mg/kg²⁴.

Villalobos D, et al (2017), evaluaron la actividad antiinflamatoria de extractos de diferentes polaridades de hojas, tallos y frutos del *Ficus maitin*. La actividad antiinflamatoria de todos los extractos fue en ratones a las dosis de 50, 100 y 200 mg/Kg, a través de dos modelos: edema auricular inducido por xilol y edema podal inducido por carragenina. En el primer modelo, a la dosis de 200 mg/Kg el extracto acuoso en frío de las hojas exhibió la mayor actividad antiinflamatoria con un 91,57 % y en el método de edema podal a la dosis de 200 mg/Kg exhibió el mayor porcentaje de inhibición a un 86,67 %²⁵.

Cheng J, et al (2017), aislaron y purificaron cuatro nuevos fenilpropanoides junto con diez compuestos fenólicos conocidos a partir de las raíces del *Ficus hirta*, evaluaron las actividades antiinflamatorias de los compuestos purificados obteniendo que los extractos y algunos compuestos exhibieron efectos inhibidores sobre la producción de óxido nítrico (NO) inducida por lipopolisacáridos (LPS) en macrófagos RAW en comparación con indometacina, lo que sugirió que podría servir como un agente antiinflamatorio²⁶.

Min Chu U, et al (2019), aislaron la ficina del látex del *Ficus carica*, la ficina suprimió la producción de NO en las células RAW264.7 estimuladas con LPS de una manera dependiente de la concentración, donde la ficina podría inhibir los niveles de expresión de ARNm y proteínas de la NO sintasa inducible (iNOS), lo que implica su actividad antiinflamatoria²⁷.

Este proyecto de investigación tuvo como finalidad verificar si el látex del *Ficus insípida* (Ojé), posee efecto antiinflamatorio debido al contenido de enzimas proteolíticas que posee como la ficina, de las cuales está relacionada a otras cisteín-proteasas tales como la papaína y la bromelaína a las cuales se les ha atribuido el efecto antiinflamatorio según diversas investigaciones, haciendo mención que la ficina pertenece a la familia de papaína²⁸. Por otro lado, el impacto que tienen las

enfermedades reumáticas en el mundo y teniendo nosotros en cuenta a la artritis reumatoide como protagonista de esta investigación, al no tener un indicio de cómo se origina esta enfermedad y la cual se presencia años después de los síntomas característicos dejando a las personas con una incapacidad motora, esta investigación buscó obtener resultados favorables aludiendo que el látex tiene un efecto sobre la membrana lisosomal para evitar que esta, como causa de dicha enfermedad, se destruya y ocasione así el origen de estas enfermedades reumáticas en general. A su vez brindar información sobre el correcto uso de dicho látex para las comunidades, la cual conllevaría una excelente alternativa económica y de fácil acceso para la población de escasos recursos económicos, ya que los fármacos para el tratamiento de las enfermedades reumáticas son excesivamente costosos si se usan fármacos biológicos e incluso utilizando fármacos genéricos. Por lo que al no haber demasiadas investigaciones sobre el efecto del látex del *Ficus insípida* (Ojé) resultó interesante estudiarla para aportar más información sobre esta planta en el ámbito de la medicina natural y para en un futuro con estudios más avanzados lograr fármacos más económicos y accesibles.

El objetivo general de este proyecto de investigación fue evaluar el efecto antiinflamatorio *in vitro* del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé) a través de la técnica de estabilización de la membrana de los eritrocitos.

La hipótesis general del estudio se describe como:

El extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé) presenta efecto antiinflamatorio sobre la estabilización de la membrana de los eritrocitos.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Enfoque y diseño de investigación

Enfoque: La presente investigación fue de enfoque cuantitativo, porque buscó probar la hipótesis a partir de la recolección de los datos.

Experimental: Porque se manipuló la variable independiente.

Analítico: Porque son estudios que establecen relaciones entre las variables de asociación o causalidad.

Explicativo: Se buscó interpretar por qué ocurre un fenómeno. Se evaluó la acción antiinflamatoria del extracto metanólico del *Ficus insípida* (Ojé).

Transversal: Porque la variable independiente fue tomada en un solo momento.

II.2. Población, muestra y muestreo

La población estuvo conformada por árboles de *Ficus insípida* (Ojé) procedente de la localidad de Padre Abad departamento de Ucayali a una altura de 300 m.s.n.m, dicha especie vegetal fue reconocida por un consultor botánico (Anexo D).

La muestra estuvo constituida por 250 mL del látex de *Ficus insípida* (Ojé) y por 10 mL de muestra sanguínea.

II.3. Variables de investigación

Independiente

- Extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé)

Definición conceptual: Es el látex del *Ficus insípida* (Ojé) extraído con metanol.

Definición operacional: El látex del *Ficus insípida* (Ojé) extraído con metanol por decantación se llevó a centrifugación y secado

Dependiente

- El efecto antiinflamatorio

Definición conceptual: Es la capacidad de una sustancia para mejorar o revertir el proceso inflamatorio en una zona específica.

Definición operacional: Se determinó el porcentaje de protección del extracto metanólico del *Ficus insípida* (Ojé) frente a los eritrocitos por espectroscopia UV-VIS.

II.4. Técnica e instrumento para la recolección de datos

La técnica de recolección de datos fue la obtención de resultados para evaluar el porcentaje de protección de la membrana frente a la hemólisis.

II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

II.5.1. Recolección y transporte de la muestra

El látex del *Ficus insípida* (Ojé), fue recolectado en la ciudad de Padre Abad ubicada en el departamento de Ucayali, la recolección se realizó a las 6:00 de la mañana de manera manual en ausencia total de lluvia, el sitio en donde se pudo obtener mayor

cantidad de látex fue el lado del árbol orientado hacia el Oeste, el lado que está en ausencia de sol por las mañanas, se realizaron cortes diagonales en forma de “v”, luego se recolectó en un frasco ámbar de 250mL herméticamente cerrado, se colocó en una cámara fría para mantener a temperatura de 2-8°C y fue trasladado hacia la ciudad de Lima.

II.5.2. Extracción metanólica del látex

Para la extracción del látex se utilizó la técnica de decantación, se tomaron 50 mL de látex del *Ficus insípida* (Ojé) y se adicionó 50mL de metanol, luego se colocó en una pera de bromo y se agitó enérgicamente por 30 minutos¹⁴. La suspensión resultante se centrifugó a 3500 rpm por 30 minutos. Posteriormente se obtuvo una mezcla bifásica compuesta de un sobrenadante (Extracto metanol-agua) y un sedimento (sólidos insolubles en metanol-agua), el sobrenadante obtenido se colocó en cápsulas de porcelana y se evaporó en una estufa con aire circulante a 60°C hasta obtener el extracto en seco¹⁵.

II.5.3. Marcha fitoquímica

Se colocó 1 mL del sobrenadante del extracto metanólico del látex en cada uno de los tubos de ensayo debidamente rotulados. Luego se agregaron a cada tubo 10 gotas de los siguientes reactivos: Cloruro férrico, Dragendorff, Mayer, Wagner, Gelatina, Benedict, Fehling B, Molish A, Shinoda, Ninhidrina, etc. En cada tubo se observaron las reacciones, si la reacción es negativa se coloca el signo (-) y si existe reacción positiva el signo (+) y varía de leve (+) a abundante (+++)(Anexo A)²⁹.

II.5.4. Prueba de detección de grupos -SH (sulfhidrilo)

Para este ensayo se utilizó un 1 mL de extracto metanólico al cual se le añadió 1 ml de hidróxido de sodio al 40% y 1 ml de acetato de plomo, se homogeneizó y calentó por 4 minutos mezclando continuamente³⁰, el resultado es positivo si se forma una coloración negra o gris³¹.

II.6. Procesamiento de los análisis estadísticos

Los datos obtenidos fueron ordenados y analizados en el programa Microsoft Excel. Los efectos de las concentraciones del extracto se analizaron mediante ANOVA, las diferencias significativas de los porcentajes de protección se analizaron a través de la prueba de rangos múltiples de Tukey con un porcentaje de confianza de 95% utilizando el programa estadístico Statgraphics Centurion XIX.

II.7. Aspectos éticos

En esta investigación no se usaron animales.

III. RESULTADOS

III.1. Resultado sobre las pruebas de Tamizaje fitoquímico

Tabla 1: Marcha fitoquímica del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé)

ENSAYOS	IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS PRIMARIOS	RESULTADOS
1.Benedict	Azúcares reductores	+++
2.Fehling	Azúcares reductores	+++
3.Ninhidrina	Aminoácidos libres	+++
ENSAYOS	IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS	RESULTADOS
4.Bortranger	Antraquinonas	+
5.Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+
6.Liebermann-Burchard	Triterpenos y esteroides	-
7.Dragendorff	Alcaloides	+++
8.Mayer	Alcaloides	+++
9.Wagner	Alcaloides	+++
10.Baljet	Lactonas α , β -insaturadas, cumarinas	+++
11.Gelatina	Taninos	-
12.Gelatina-sal	Taninos	-
13.NaOH	Antocianinas	+
14.Prueba de la espuma	Saponinas	+++
15.Shinoda	Flavonoides	-

(-): Ausencia; (+): Leve; (++) : Moderado; (+++): Abundante

En la tabla 1 se puede apreciar la presencia importante de alcaloides, así como de azúcares reductores, saponinas, lactonas y aminoácidos libres. Se evidenció en pequeñas proporciones metabolitos como las antraquinonas, compuestos fenólicos y antocianinas. No se observó la presencia de taninos, triterpenos, esteroides y flavonoides.

III.2. Resultados sobre la prueba de los grupos sulfhidrilos (-SH)



Figura 2: Resultado de grupos sulfhidrilos del extracto metanólico del látex *Ficus insípida* (Ojé)

En la Figura 2 el resultado fue positivo debido a que se formó una coloración negra del reactivo con el extracto metanólico del *Ficus insípida* (Ojé).

III.3. Resultados sobre la determinación de la actividad antiinflamatoria mediante la estabilización de la membrana de los eritrocitos

Tabla 2: Absorbancia del control, indometacina y los extractos metanólicos del látex del *Ficus insípida* (Ojé)

Tratamientos	Absorbancia ($\square \pm DE$)
Agua destilada (control)	0.0459 \pm 0.0006 ^a
Extracto metanólico 10 μ g/mL	0.0349 \pm 0.0005 ^b
Extracto metanólico 50 μ g/mL	0.0311 \pm 0.0004 ^c
Extracto metanólico 100 μ g/mL	0.0258 \pm 0.0008 ^d
Extracto metanólico 200 μ g/mL	0.0171 \pm 0.0005 ^e
Indometacina 100 μ g/mL (control +)	0.0186 \pm 0.0006 ^f

Nota: Las letras superíndices indican diferencias significativas entre las medias (n=2) de las medias de las absorbancias. DE: desviación estándar.

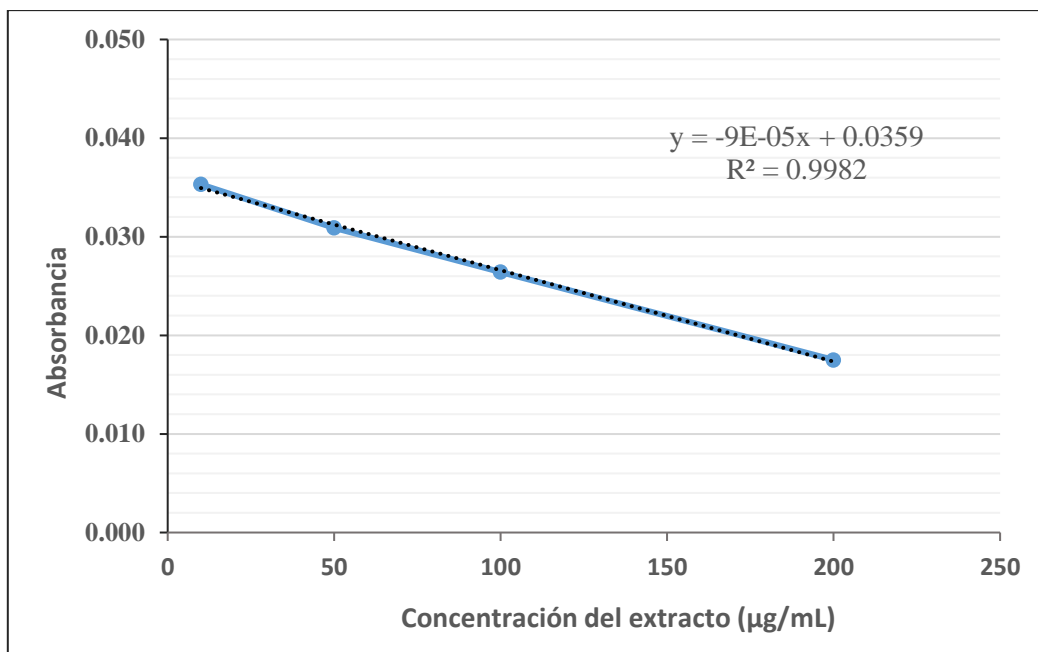


Figura 3: Relación de las absorbancias con las concentraciones de los extractos metanólicos del látex de *Ficus insípida* (Ojé)

En la Figura 3 se evidencia que las absorbancias y las concentraciones tiene una relación lineal inversa. En cuanto aumenta la concentración del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé) la absorbancia disminuye.

Tabla 3: Resumen estadístico para absorbancias de los tratamientos

Tratamientos	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
CONTROL	0.04635	0.0006363	1.37305%	0.0459	0.0468	0.0009
EM-10	0.03525	0.000494975	1.40418%	0.0349	0.0356	0.0007
EM-100	0.0264	0.000848528	3.21412%	0.0258	0.027	0.0012
EM-200	0.01745	0.000494975	2.83653%	0.0171	0.0178	0.0007
EM-50	0.03085	0.000353553	1.14604%	0.0306	0.0311	0.0005
INDOM	0.01905	0.000636396	3.34066%	0.0186	0.0195	0.0009
Total	0.0258	0.00716969	27.7895%	0.0171	0.0356	0.0185

Tabla 4: Tabla ANOVA para absorbancia por tratamientos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0004609	4	0.000115225	331.11	0.0000
Intra grupos	0.00000174	5	3.48E-7		
Total (Corr.)	0.00046264	9			

Por cuanto el Valor-P a un nivel de significancia de 5% es menor a 0,05; evidencia que para cada concentración de los extractos metanólicos las absorbancias son diferentes.

Tabla 5: Pruebas de múltiples rangos para absorbancia por tratamientos según LSD

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
EM-200	2	0.01745	X
INDOM	2	0.01905	X
EM-100	2	0.0264	X
EM-50	2	0.03085	X
EM-10	2	0.03525	X
CONTROL	2	0.04635	X

La tabla 5 evidencia que las absorbancias de acuerdo a los grupos homogéneos son diferentes para cada tratamiento, además muestra que al mayor valor de absorbancia corresponde para el control y el menor corresponde para 200 µg/mL del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé).

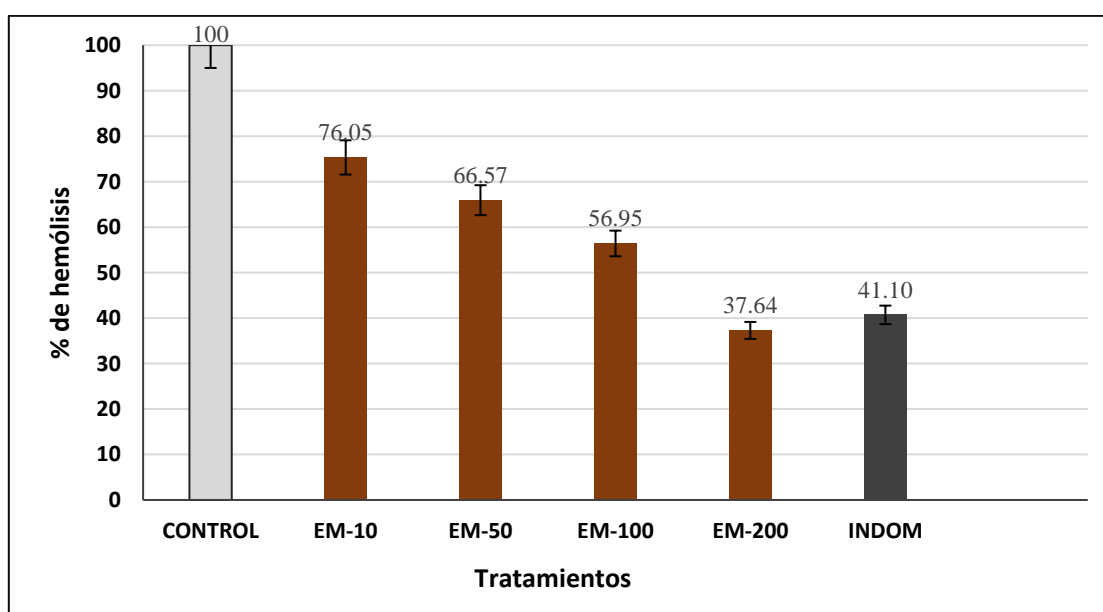


Figura 4: Porcentaje de hemólisis para cada tratamiento

En la figura 4 se evidencia que el % de hemólisis disminuye a medida que aumenta la concentración del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé), asimismo, muestra que el % de hemólisis del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé) de 200 µg/mL es similar al de indometacina (100 µg/mL).

Tabla 6: Resumen estadístico para % de hemólisis

Tratamientos	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
EM-10	76.05	0.0282843	0.0371917%	76.03	76.07	0.04
EM-100	56.95	1.04652	1.83761%	56.21	57.69	1.48
EM-200	37.64	0.551543	1.46531%	37.25	38.03	0.78
EM-50	66.57	1.68291	2.52804%	65.38	67.76	2.38
INDOM	41.095	0.813173	1.97876%	40.52	41.67	1.15
Total	55.661	15.4614	27.7778%	37.25	76.07	38.82

Tabla 7: ANOVA para % de hemólisis por tratamientos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2146.61	4	536.652	548.31	0.0000
Intra grupos	4.89365	5	0.97873		
Total (Corr.)	2151.5	9			

En la tabla 7 se evidencia que el Valor-P a un nivel de significancia de 5% es menor a 0,05; esto demuestra diferencias estadísticamente significativas de los porcentajes de hemólisis para cada tratamiento.

Tabla 8: Pruebas de múltiples rangos para % de hemólisis por tratamientos según LSD

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
EM-200	2	37.64	x
INDOM	2	41.10	x
EM-100	2	56.95	x
EM-50	2	66.57	x
EM-10	2	76.05	x

La tabla 8 evidencia que los % de hemólisis de acuerdo con los grupos homogéneos son diferentes para cada tratamiento, además muestra que el mayor valor del % de hemólisis corresponde para el control y el menor corresponde para 200 µg/mL del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé).

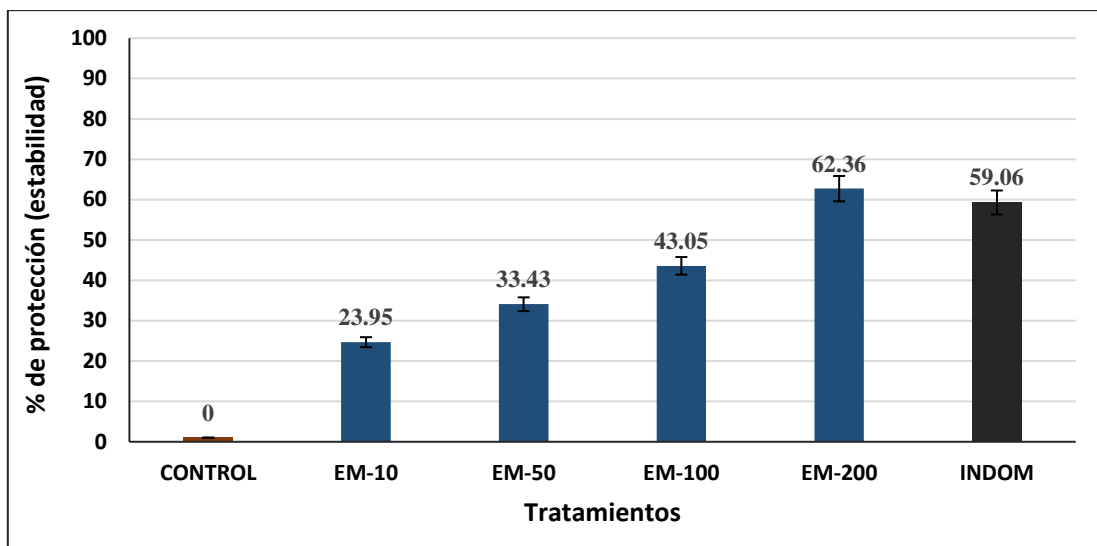


Figura 5: Porcentaje de protección (estabilidad) frente a la hemólisis para los tratamientos

La Figura 5 muestra que a medida que aumenta la concentración de los extractos, aumenta el porcentaje de protección de hemólisis de los eritrocitos. Es una relación directa entre la concentración y el % de protección.

Tabla 9: Resumen estadístico para % de protección

Tratamientos	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
EM-10	23.95	0.0282843	0.118097%	23.93	23.97	0.04
EM-100	43.05	1.04652	2.43094%	42.31	43.79	1.48
EM-200	62.36	0.551543	0.88445%	61.97	62.75	0.78
EM-50	33.43	1.68291	5.03414%	32.24	34.62	2.38
INDOM	59.055	1.0253	1.73619%	58.33	59.78	1.45
Total	44.369	15.4943	34.9215%	23.93	62.75	38.82

Tabla 10: ANOVA para % de protección por tratamientos

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2155.38	4	538.846	509.92	0.0000
Intra grupos	5.28365	5	1.05673		
Total (Corr.)	2160.67	9			

En la tabla 10 se evidencia que el Valor-P a un nivel de significancia de 5% es menor a 0,05; esto demuestra las diferencias estadísticamente significativas de los porcentajes protección para cada tratamiento.

Tabla 11: Pruebas de múltiples rangos para % de protección por tratamientos según LSD

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
EM-10	2	23.95	X
EM-50	2	33.43	X
EM-100	2	43.05	X
INDOM	2	59.055	X
EM-200	2	62.36	X

La tabla 11 evidencia que los % de protección de acuerdo con los grupos homogéneos son diferentes para cada tratamiento, además muestra que el mayor valor del % de protección corresponde el extracto de 200 µg/mL, siendo superior al % de protección de la indometacina de 100 µg/mL.

IV. DISCUSIÓN

IV.1. Discusión de resultados

En el tamizaje fitoquímico del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé) se pudo observar una mayor cantidad de metabolitos como: alcaloides, lactonas y aminoácidos libres tal como lo muestra la tabla 1. Esto coincide con un estudio sobre el látex del *Ficus insípida* realizado por **Herrera Z y Moreno Z**¹⁴ que obtuvieron metabolitos similares a nuestros resultados además de encontrar fenoles y cardenólidos.

Así mismo, dicho extracto mostró un resultado positivo a la prueba de grupos sulfhidrilos, observándose una coloración negra como se puede apreciar en la figura 2. Esto puede deberse a la presencia de cisteína dentro del extracto metanólico del *Ficus insípida* (Ojé) cuya estructura química contiene un grupo sulfhidrilo³⁶. Tal como nos indica **Ferreira R**³⁷ en su tesis, las enzimas como la ficina, pertenecen a la clase de las hidrolasas subclase de las peptidasas y en un grupo llamado cistein-endopeptidasas que se caracterizan por tener una cisteína involucrada en el proceso catalítico.

Para determinar el efecto antiinflamatorio *in vitro* en la presente investigación, se utilizó el método de la estabilización de la membrana de los eritrocitos debido a su semejanza con la membrana lisosomal, según **Kardile M, et al**³⁸ la membrana lisosomal al someterse a una lisis libera enzimas que están presentes en un proceso inflamatorio.

En la figura 4 se demuestra que el porcentaje de hemólisis del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé) es inversamente proporcional a la concentración de los extractos. Esto coincide con **Acostupa F, et al**³² en su estudio antiinflamatorio *in vitro* en 4 plantas, evidenció que a mayor concentración de los extractos disminuye el porcentaje de hemólisis.

Además, la figura 5 mostró un porcentaje de protección de 62.36 % a una concentración de 200 µg/mL la cual es ligeramente superior al de la indometacina al 100 µg/mL con un porcentaje de 59.06%, este resultado fue similar al de **Tello J, et al**³⁹, que en su estudio antiinflamatorio sobre las hojas del diente de león, demostró que su mayor concentración del extracto tuvo un mejor porcentaje de protección con un 58.89% superando a la misma aspirina con un 52.74%, a su vez **Cueva Z, et al**²³ en su estudio antiinflamatorio del látex del *Ficus obtusifolia* obtuvieron resultados significativos al 3%, superior al diclofenaco 1%, lo que evidenciaría una relación

directamente proporcional entre la concentración y el porcentaje de protección o estabilidad de la membrana de los eritrocitos. Esta relación entre la concentración y el efecto antiinflamatorio es semejante en los resultados obtenidos por **Villalobos D, et al**²⁵ y **Mayhua D y Avendaño A**²⁴ a diferencia que el procedimiento realizado por dichos autores fueron metodologías descritas en estudios *in vivo*. Por otro lado **Salazar J, et al**³³ en su investigación sobre la actividad antiinflamatoria del *Cuscuta jalapensis* demostró que la indometacina obtuvo un 95% de hemólisis inducido por calor, a diferencia de nuestros resultados la indometacina mostró un 40.71% de hemólisis, esto podría deberse a la diferencia del proceso para la inducción de hemólisis.

Por lo tanto, el extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé) a una concentración de 200 µg/mL tiene una respuesta significativa sobre la estabilización de la membrana de los glóbulos rojos en comparación a nuestro fármaco de referencia indometacina a una concentración de 100 µg/mL, obteniendo unos porcentajes de 62.36 % y 59.06 % respectivamente, demostrando que nuestro extracto a dicha concentración posee un valor ligeramente mayor en comparación a dicho fármaco.

En nuestros resultados se realizó un análisis de varianza por ANOVA evidenciando que el valor de P es menor a 0,05; como consecuencia se observa que para cada concentración de los extractos metanólicos las absorbancias, porcentaje de hemólisis y porcentaje de protección son diferentes.

Asimismo, la actividad antiinflamatoria que presenta nuestro extracto metanólico puede deberse a la presencia de la ficina, que es uno de los compuestos bioactivos más importantes del látex del *Ficus insípida* (Ojé), según **Fernández J**⁴⁰, en su estudio sobre el *Ficus citrifolia*, menciona que este metabolito al pertenecer a la familia de las cistein-proteasas, al igual que la papaína y la bromelaína, a las cuales se les atribuye efecto antiinflamatorio, podría ser el responsable de dicha actividad.

IV.2. Conclusiones

Los resultados obtenidos en la presente investigación nos conducen llegar a las siguientes conclusiones:

- Según la marcha fitoquímica del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé) se pudo observar la presencia de alcaloides, lactonas, azúcares

reductores y aminoácidos libres, a su vez no se evidenció la presencia de flavonoides, taninos y triterpenos.

- El mayor porcentaje de protección (62.36%) sobre la membrana de los eritrocitos frente a la hemólisis se obtuvo con el extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé) a una concentración de 200 µg/mL, superando ligeramente el porcentaje de protección (59.06%) de la indometacina (100 µg/mL).
- El porcentaje de protección del extracto metanólico del látex del *Ficus insípida* (Ojé) sobre la membrana de los eritrocitos frente a la hemólisis fue directamente proporcional a la concentración del extracto.

IV.3. Recomendaciones

- Se sugiere investigar más esta planta en base a su actividad antiinflamatoria debido a que en la actualidad no hay demasiada información y así poder aportar mejores conocimientos en las poblaciones menos accesibles a fármacos que son altamente costosos para dichas enfermedades.
- Se sugiere propagar dicha información con las poblaciones de escasos recursos y alejados de zonas céntricas que el látex del *Ficus insípida* (Ojé) posee un efecto antiinflamatorio y puede ser reemplazo de ciertos fármacos sintéticos que a la larga ocasionan efectos adversos.
- Se debe profundizar mejor los conocimientos acerca del látex del *Ficus insípida* (Ojé), para evitar posibles efectos de toxicidad.
- Realizar estudios no solo al látex del tronco, sino también a las diferentes partes del *Ficus insípida* (Ojé) (raíz, hojas, flores) con el mismo método utilizado para obtener una serie de resultados diferentes y así poder obtener mejores resultados de la actividad antiinflamatoria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lopez A, Gonzalez E, Ruiz J, Rivera J. Inmunidad e inflamación en el proceso quirúrgico. Rev la Fac Med la UNAM [Internet]. 2018;61(4):7–15. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/facmed/v61n4/2448-4865-facmed-61-04-7.pdf>
2. Gibofsky A. Epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis: A synopsis. Am J Manag Care. 2014;20(7 SUPPL.):128–35.
3. Instituto Nacional de Salud-Perú. Etanercept para el tratamiento de artritis reumatoide sin respuesta óptima a fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FARMES) convencionales. Unidad Análisis y Generación Evidencias en Salud Pública [Internet]. 2019;1–61. Disponible en: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/02/970790/ets-018-2018-adalimumab-artritis-reumatoide.pdf>
4. García M, Loza E. Artritis reumatoide: epidemiología e impacto sociosanitario. Reumatol Clínica [Internet]. 2018;14:3–6. Disponible en: <https://www.reumatologiaclinica.org/index.php?p=revista&tipo=pdf-simple&pii=X1699258X18628548>
5. Peschken C, Hitchon C, Garland A, Bernstein C, Chen H, Fransoo R, et al. A population based study of intensive care unit admissions in rheumatoid arthritis. J Rheumatol [Internet]. 2016;43(1):26–33. Disponible en: <https://www.jrheum.org/content/43/1/26>
6. Londoño J, Peláez I, Cuervo F, Angarita I, Giraldo R, Rueda J, et al. Prevalencia de la enfermedad reumática en Colombia, según estrategia - Asociación Colombiana de Reumatología Estudio de prevalencia de enfermedad reumática en población colombiana mayor de 18 años. Rev Colomb Reumatol [Internet]. 2018;25(4):245–56. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-colombiana-reumatologia-374-articulo-prevalencia-enfermedad-reumatica-colombia-segun-S0121812318300951>
7. Cantorín L. Artritis reumatoide en el hospital nacional “ramiro prialé prialé” de Huancayo, periodo 2015 – 2017 [Internet]. Universidad Nacional Del Centro; 2018. Disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/4341/Cantorin>

- [Internet]. Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2019. Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/4136#.X-HJg78SDBQ.mendeley>
16. Jarrin J. Utilización de la enzima ficina extraída del higo para la elaboración del queso andino [Internet]. Universidad Estatal de Bolívar; 2016. Disponible en: [http://190.15.128.197/bitstream/123456789/1491/1/Borrador final.pdf](http://190.15.128.197/bitstream/123456789/1491/1/Borrador%20final.pdf)
 17. Wanionok N. Prospección biotecnológica de lipasas y peptidasas provenientes de látex de plantas [Internet]. Universidad Nacional de la Plata; 2017. Disponible en: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/02/970790/ets-018-2018-adalimumab-artritis-reumatoide.pdf>
 18. González M, González A. La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. Revista Habanera de Ciencias Médicas [Internet]. 2019;18(1):30–44. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v18n1/1729-519X-rhcm-18-01-30.pdf>
 19. Cando A, Valencia E, Segovia G, Tutillo J, Paucar L, Zambrano M. Avances en la atención de salud a los pacientes con enfermedades reumáticas. Rev Cuba Reumatol [Internet]. 2018;20(3):32. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rcur/v20n3/1817-5996-rcur-20-03-e43.pdf>
 20. Patricia E, Fiallos C, Janeth L, Vera C, Evelyn K, Cudco C, et al. Relación entre enfermedades reumáticas y diabetes mellitus. Revista Cubana de Reumatología [Internet]. 2019;1–10. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rcur/v21n3/1817-5996-rcur-21-03-e97.pdf>
 21. Estefanía W, Rodríguez A, Adriana G, Medina A, Dávila D, Arteaga C, et al. Artritis reumatoide , diagnóstico , evolución y tratamiento. Revista Cubana de Reumatología. 2019;21–3:1–9.
 22. Carranza J. Evaluación del efecto antiinflamatorio del gel con extracto etanólico de la corteza del ficus pertusa en ratas albinas [Internet]. Universidad Inca Garcilaso de La Vega; 2018. Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/2631>
 23. Cueva Z, Dueñas R, Paucar E. Efecto antiinflamatorio del gel a base del látex

- de *Ficus obtusifolia* kunth (“sugo”) sobre el edema subplantar inducido por carragenina en ratas holtzman. [Internet]. Universidad Maria Auxiliadora; 2020. Disponible en: http://191.98.185.106/bitstream/handle/UMA/291/TESIS_FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y
24. Mayhua D, Avendaño A. Efecto antiinflamatorio del extracto alcohólico de hojas de *Morus nigra* en ratas albina [Internet]. Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018. Disponible en: http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/5042%0Ahttp://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2634/TESIS_ALCALÁ_PIMENTEL_%26_GARCÍA_RAMÍREZ.pdf?sequence=3&isAllowed=y
 25. Villalobos D, Rios N, Ramírez I, Meléndez P. Actividad antiinflamatoria in vivo de extractos de hojas, tallos y frutos de *Ficus maitin* Pittier. *Rev Fac Farm.* 2017;59(2):16–23.
 26. Cheng J, Yi X, Chen H, Wang Y, He X. Anti-inflammatory phenylpropanoids and phenolics from *Ficus hirta* Vahl. *Fitoterapia* [Internet]. 2017;121(July):229–34. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2017.07.018>
 27. Cho UM, Choi D, Yoo D, Park S, Hwang H. Inhibitory Effect of Ficin Derived from Fig Latex on Inflammation and Melanin Production in Skin Cells. *Biotechnol Bioprocess Eng.* 2019;24(2):288–97.
 28. Arevalo J, Ubillus S. Actividad anticoagulante in vitro del látex del *Ficus insipida* “ojé” sobre la cascada de la coagulación sanguínea. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2013.
 29. Huayama B, Ramirez L. Identificación preliminar de los metabolitos secundarios del fruto de *Ficus insípida* “ojé” provenientes de las ciudades de Tarapoto y Juanjui de la selva de Perú. Universidad Maria Auxiliadora; 2019.
 30. Puertas A. Métodos Cuantitativos Para La Identificación De Aminoácidos Y Proteínas [Internet]. 2016. Disponible en: http://webdelprofesor.ula.ve/farmacia/gmendez/manuales_PDF/EXPERIMENTO_2_IDENT_AA_06-04.pdf
 31. Vázquez Y, Guerra L, Quintana J, Ramírez J, Fernando R, Vázquez Y.

- Caracterización físicoquímica y contenido de proteínas de extractos fluidos del ostión de mangle (*Crassostrea rizophorae*). *Rev Cuba Química*. 2015;26(1):66.
32. Acostupa F, Chávez A, Mejía S, Pauta M, Tucunango J. Efecto antiinflamatorio in vitro de los extractos etanólicos de cuatro plantas medicinales peruanas. *Rev Peru Med Integr*. 2017;2(2):79.
 33. Salazar J, Villanueva M, Garcia E, Soto G. Actividad antiinflamatoria in vitro de los extractos etanolico y hexánico de tallos de *Cuscuta jalapensis* Schldl. *Investig y Cienc la Univ Autónoma Aguascalientes*. 2018;75(1):20–7.
 34. Jáuregui L. Efecto neuroprotector del extracto del *zea mays* l. sobre la bradicinesia y rigidez inducidas por haloperidol en ratas [Internet]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/4687/1/Jáuregui_tl.pdf
 35. Valdes L, Arias Q, Ramirez J. Actividad antiinflamatoria y antioxidante in vitro de extractos etanólicos de *Jatropha aethiopica* Müell Arg var *inermis*. *Rev Cuba Química*. 2018;30(3):440–53.
 36. Mesa NR, Carmona CA, Burgos LC. Pruebas bioquímicas para la detección de metabolitos producidos en los errores innatos del metabolismo. *latreia* [Internet]. 2014;27(4):417–27. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932014000400005&lng=en&nrm=iso&tlng=es
 37. Ferreira R. Ação de Enzimas de Origem Vegetal (Bromelina e Ficina) sobre anticorpos produzidos por cavalos imunizados com veneno de *Bothrops jararaca*. Universidade de São Paulo; 2016.
 38. Kardile M, Mahajan U, Shaikh H. Membrane Stabilization assay for Anti-inflammatory activity yields misleading results for samples containing traces of Methanol. *Asian J Pharm Res*. 2019;9(3):169.
 39. Tello J. Estudio del potencial antiinflamatorio y citotóxico del extracto acuoso de hojas de diente de león (*Taraxacum officinale*). Universidad Técnica de Ambato; 2018.

40. Fernandez J. Efecto cicatrizante del gel del extracto hidroalcoholico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill en ratones albinos. Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2019.

ANEXOS

Anexo A: Instrumento de recolección de datos

TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Investigador(as): APAZA IPANAQUÉ, MANUEL ANGEL
VERÁSTEGUI LEGUA, NATALY MILAGROS

Tamizaje fitoquímico de metabolitos secundarios

TUBO	ENSAYOS	METABOLITO	RESULTADO
N° 1	Fehling B	Azúcares reductores	
N° 2	Wagner	Alcaloides	
N° 3	Sonnenschein	Alcaloides	
N° 4	Seliwanoff	Carbohidratos	
N° 5	Tollens B	Lactonas/ Sesquiterpenos	
N° 6	Mayer	Alcaloides	
N° 7	Molish A	Carbohidratos	
N° 8	Dragendorf	Alcaloides	
N° 9	Benedict	Azúcares reductores	
N° 10	Gelatina	Fenoles	
N° 11	Nihidrina	Aminoácidos	
N° 12	Sudan III	Compuestos grasos	
N° 13	Cloruro Ferrico	Taninos	
N° 14	Bertrand	Alcaloides	
N°15	Shinoda	Flavonoides	
N°16	Espuma	Saponinas	

(-): Ausencia; (+): Leve; (++) : Moderado; (+++) : Medio; (++++): Abundante

Fuente: Elaboración propia

ENSAYO FARMACOLÓGICO EXPERIMENTAL ANTIINFLAMATORIO

Investigador(as): APAZA IPANAQUÉ, MANUEL ANGEL
VERÁSTEGUI LEGUA, NATALY MILAGROS

Muestra: A cada tubo se le añadirá 200 ug de tampón fosfato, 500 ug de solución hiposalina, 125 ug de la suspensión de glóbulos rojos al 10% y 125 ug de látex del *Ficus insípida* (Ojé). Realizar el ensayo por duplicado.

Fecha:

TUBOS	CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO METANÓLICO DEL LÁTEX DEL <i>Ficus insípida</i> (Ojé)						RESULTADOS
	10 ug/ml	50 ug/ml	100 ug/ml	200 ug/ml	Control farmacológico	Control (-)	
1							
2							
3							
4							

Fuente: Elaboración propia

Anexo B: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿El extracto metanólico del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé) tendrá efecto antiinflamatorio sobre la estabilización de la membrana de los eritrocitos?	Evaluar el efecto antiinflamatorio <i>in vitro</i> del extracto metanólico del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé) a través de la técnica de estabilización de la membrana de los eritrocitos.	El extracto metanólico del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé) presenta efecto antiinflamatorio sobre la estabilización de la membrana de los eritrocitos.
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿El metanol extraerá los componentes activos del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé)?	Obtener el extracto metanólico del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé).	El metanol permite extraer componentes activos del látex de <i>Ficus insípida</i> (Ojé).
¿Se encontrarán metabolitos con actividad antiinflamatoria en el extracto metanólico del látex de <i>Ficus insípida</i> (Ojé)?	Determinar los componentes fitoquímicos del extracto metanólico de látex de <i>Ficus insípida</i> (Ojé).	El extracto metanólico del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé) contiene metabolitos con actividad antiinflamatoria.
¿Qué porcentaje de protección tendrá el extracto metanólico del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé) sobre la estabilización de la membrana de los eritrocitos?	Determinar el porcentaje de protección del extracto metanólico del látex de <i>Ficus insípida</i> (Ojé) sobre la membrana de los eritrocitos frente a la hemólisis.	El extracto metanólico del látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé) protege en alto porcentaje a la membrana de los eritrocitos frente a la hemólisis.

Anexo C: Operacionalización de las variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición	Nº de Ítems	Valor
<p>Independiente</p> <p>El extracto metanólico del látex del <i>Ficus insípida</i></p>	Es el látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé) extraído con metanol.	El látex del <i>Ficus insípida</i> (Ojé) extraído con metanol por decantación se llevó a centrifugación y secado	Fitoquímica	Presencia de metabolitos secundarios	Nominal	16	(+): Positivo (-): Negativo
<p>Dependiente</p> <p>El efecto antiinflamatorio</p>	Es la capacidad de una sustancia para mejorar o revertir el proceso inflamatorio en una zona específica.	Se determinó el porcentaje de protección del extracto metanólico del <i>Ficus insípida</i> (Ojé) frente a los eritrocitos por espectroscopia UV-VIS.	Farmacológica	Porcentaje de protección	Numérica	6	Porcentajes (%)

Anexo D: Certificado de identificación botánica del *Ficus insípida* (Ojé)

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. N° 3796
Tel: 017512863 RPM 963689079
Email: joramde@gmail.com



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO- N° 3796 – INSCRITO CON EL N° 36 EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA:

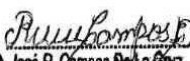
Que, Apaza Ipanaqué, Manuel Angel y Verástegui Legua, Nataly Milagros, Bachilleres egresados de la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta procedente, de la provincia de Padre Abad, departamento de Ucayali, donde es conocida con el nombre vulgar de “ojé”, la muestra ha sido estudiada e identificadas como: *Ficus insípida* Willd. Según la base de Tropicos que sigue la clasificación de los grupos de filogenia de las angiospermas (APG), sistema moderno de clasificación de las angiospermas publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009) y APG IV (2016), comparado con el Sistema Integrado de Clasificación de las Angiospermas de Arthur Cronquist. et. al (1981), ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

Categorías	Sistema APG-2016	Sistema de Cronquist 1981
Reino	Plantae	Plantae
División	Angiospermae	Magnoliophyta
Clase	Equisetopsida	Magnoliopsida
Subclase	Magnoliidae	Hamamelididae
Orden	Rosales	Urticales
Familia	Moraceae	Moraceae
Género	<i>Ficus</i>	<i>Ficus</i>
Especie	<i>Ficus insípida</i> Willd.	<i>Ficus insípida</i> Willd.

Nombre vulgar: “ojé”

Se expide la presente certificación para los fines de investigación científica.

Lima, 11 de mayo del 2021


José R. Campos De La Cruz
BIÓLOGO
C.B.P. 3796

JR. SANCHEZ SILVA N° 156- piso 3. Urb. Santa Luzmila. Lima 07
Email: joricampos@yahoo.es; joramde@gmail.com

Anexo E: Evidencias fotográficas del trabajo de campo



Figura 6: Árbol del *Ficus insipida* (Ojé)



Figura 7: Recolección del látex del *Ficus insipida* (Ojé)



Figura 8: Decantación y centrifugación del látex del *Ficus insipida* (Ojé)



Figura 9: Sobrenadante y desecación del extracto del látex del *Ficus insipida* (Ojé)

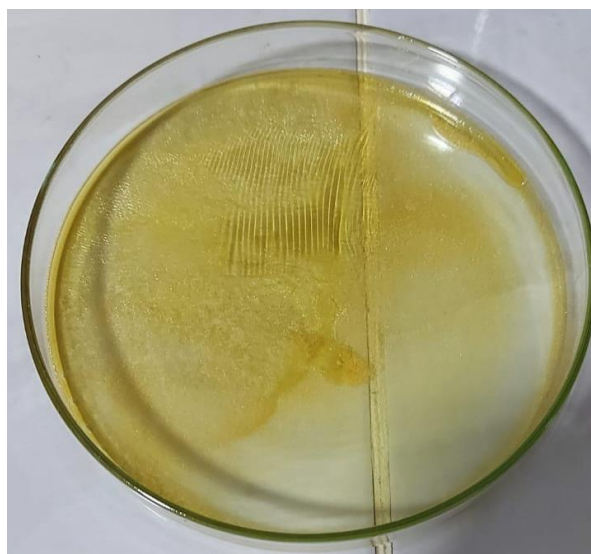


Figura 8: Extracto seco del látex del *Ficus insipida* (Ojé)



Figura 9: Resultados de la marcha fitoquímica del látex del *Ficus insipida* (Ojé)



Figura 10: Extracción de sangre venosa y lavado de glóbulos rojos

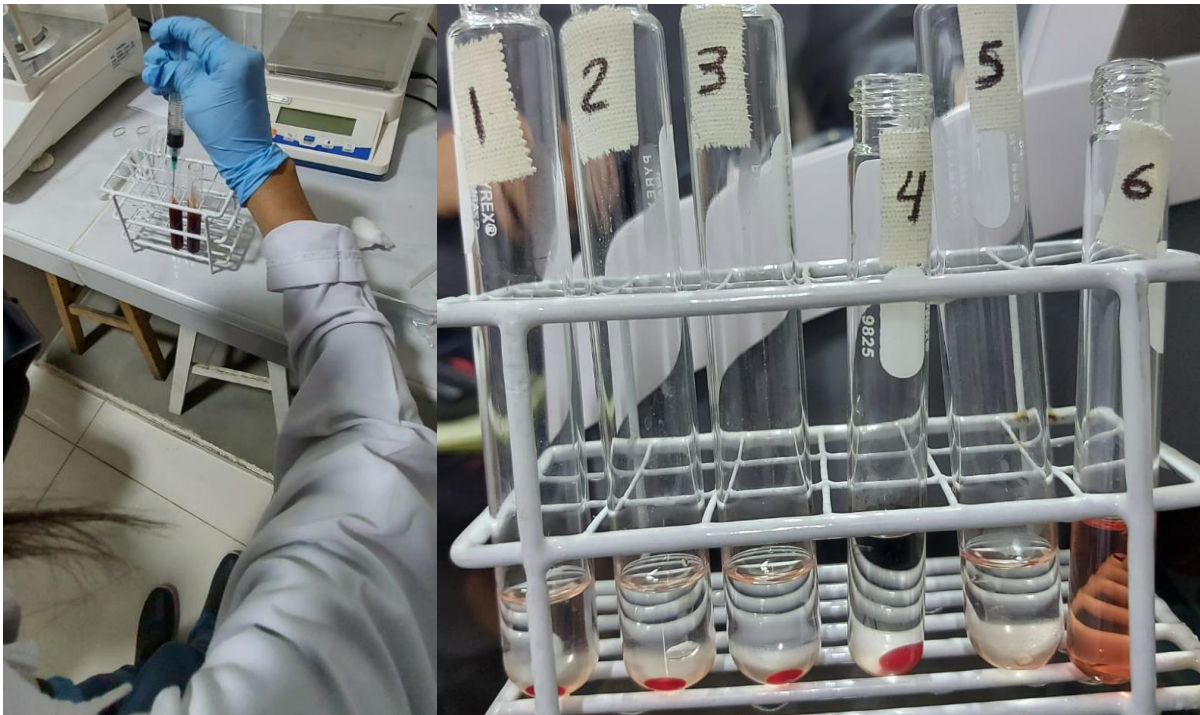


Figura 11: Preparación de las muestras para la lectura al espectrofotómetro UV-Vis



Figura 12: Muestras analizadas por el espectrofotómetro UV-Vis a 560nm