



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

FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD CITOTÓXICA IN VITRO EN  
*Artemia salina* DE HOJAS DE *Buddleja coriacea* J.Remy  
“QUISHUAR” DEL CALLEJÓN DE CONCHUCOS,  
DEPARTAMENTO DE ANCASH  
TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO

AUTORES

BACH. ARIAS VILLEGAS, PABLO CÉSAR

<https://orcid.org/0000-0002-2788-6791>

BACH. OCHOA ROJAS, LOURDES MILENA

<https://orcid.org/0000-0003-2685-1543>

ASESOR

MG. HERNANDEZ GUERRA, REYNA

<https://orcid.org/0000-0002-4844-8539>

LIMA – PERÚ

2022

## **DEDICATORIA**

A Dios por permitirme el haber llegado hasta este momento de mi vida profesional y personal para seguir adelante acompañando a toda mi familia de salud y mucha fortaleza frente a toda adversidad.

A mis padres, Gregoria y Pablo, por depositar su confianza en mí y que con su ejemplo y su esfuerzo hacen posible estos logros a quienes les agradezco todo el cariño, paciencia y apoyo incondicional que me brindan en todo momento.

A mi hermana, Diana y mis primas que por su invaluable ayuda en los momentos más críticos me motivaron en la realización de mis metas, porque siempre he contado con su apoyo y confianza.

**Pablo Cesar Arias Villegas**

Dedico este trabajo principalmente a Dios por darme la oportunidad de vivir, tener salud y amor; asimismo de su compañía como guía para ayudarme a fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y así llegar hasta este instante de mi formación profesional.

A mi madre Herme por ser el pilar más importante en mi vida e impulsarme constantemente a seguir adelante con su ejemplo de perseverancia e ímpetu para progresar en esta vida.

A mi padre Quinti por depositar su confianza en mí dándome su apoyo en la educación y formación como persona.

A mis hermanos por tener siempre el amor que necesito.

Finalmente, a todas las personas que estuvieron conmigo en cada paso que doy, gracias por el soporte y compañía durante todo el periodo de formación como persona y profesional.

**Lourdes Milena Ochoa Rojas**

## **AGRADECIMIENTO**

Este trabajo es el resultado de un apoyo en equipo de maestros que en diferentes años en nuestra etapa universitaria nos fueron inculcando conocimiento, respeto, ética y valores para ser un profesional.

A nuestra asesora de tesis Mg. Q.F. Reyna Hernández Guerra, docente de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora, por siempre ser paciente y entusiasta con nosotros para la culminación de nuestro trabajo.

A la Dra. Q.F. Britt Alvarado Chávez, docente de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener, por siempre haber confiado y colaborado durante el proceso de nuestra investigación.

Al Dr. Q.F. Pablo Enrique Bonilla Rivera, docente de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM y UIGV por el soporte, bríndanos consejos y ser guía en la elaboración de nuestra investigación.

A la Dra. Bertha Jurado Teixeira, ex docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, que partió al cielo dándonos el apoyo en el proceso inicial de investigación.

Q.F. Eva Ramos Llica y la Dra. Q.F. Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa, docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, por su incondicional apoyo brindado durante el proceso de nuestra investigación.

Al ex alcalde Ronald Broncano Cadillo, la guía Ruth Karina Pagola y los pobladores de la Zona de Conchucos, Provincia de Asunción, Distrito de Chacas, Dpto. De Ancash, gracias por la hospitalidad y colaboración para realizar esta investigación.

## ÍNDICE GENERAL

	Páginas
<b>RESUMEN</b>	10
<b>ABSTRACT</b>	11
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	12
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	16
II.1 Enfoque y diseño de la Investigación	16
II.2 Población, muestra y muestreo	17
II.3 Variables de Investigación	17
II.4 Técnica e Instrumentos de recolección de datos	18
II.5 Proceso de recolección de datos	18
II.6 Método de análisis estadístico	23
II.7 Aspectos éticos	23
<b>III.RESULTADOS</b>	24
<b>IV.DISCUSIÓN</b>	19
IV.1 Discusión de resultados	31
IV.2 Conclusiones	34
IV.3 Recomendaciones	35
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	36
<b>ANEXOS</b>	39

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla N° 1</b>	:	Actividad Citotóxica de la Artemia Salina .....	22
<b>Tabla N° 2</b>	:	Clasificación de toxicidad según CYTED.....	23
<b>Tabla N° 3</b>	:	Prueba de solubilidad del extracto hidroalcolico de las hojas frescas de <i>Buddleja coriacea</i> J.Remy “Quishuar” (Concentración).....	24
<b>Tabla N° 4</b>	:	Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de <i>Buddleja coriacea</i> J.Remy “Quishuar”.....	25
<b>Tabla N° 5</b>	:	Leyenda de interpretación de resultados.....	26
<b>Tabla N° 6</b>	:	Resultados de la Toxicidad Día N°1 , 2 & 3 .....	28
<b>Tabla N° 7</b>	:	Resultados con el programa estadístico SPSS versión 24.....	29

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	.	Solubilidad de la muestra con diferentes disolventes .....	24
<b>Figura 2</b>	.	Resultados del análisis fitoquímico.....	27
<b>Figura 3</b>	.	Resultados de la actividad citotoxicidad de Artemia Salina.....	29
<b>Figura 4</b>	.	Análisis estadístico de la actividad de citotoxicidad.....	30
<b>Figura 5</b>	:	Ubicación geográfica de colecta de la región de Chachas .....	47
<b>Figura 6</b>	:	Arbusto del Quishuar .....	47
<b>Figura 7</b>	:	Corteza del tallo .....	47
<b>Figura 8</b>	:	Hoja (Cara superior) .....	48
<b>Figura 9</b>	:	Hoja (Cara inferior).....	48
<b>Figura 10</b>	:	Inflorescencia y Flores de Quishuar de la provincia de Chanca.....	48
<b>Figura 11</b>	:	Preparación de la muestra.....	49
<b>Figura 12</b>	:	Preparación del macerado.....	50
<b>Figura 13</b>	:	Obtención de la Muestra concentrada.....	51
<b>Figura 14</b>	:	Procedimiento de solubilidad.....	52
<b>Figura 15</b>	:	Procedimiento de la marcha fitoquímica.....	52
<b>Figura 16</b>	:	Preparación del agua de mar artificial usada en la eclosión y cultivo de los quistes.....	53
<b>Figura 17</b>	:	Eclosión y cultivo en Artemia salina.....	53
<b>Figura 18</b>	:	Procedimiento de la Actividad Citotóxica.....	54
<b>Figura 19</b>	:	Epidermis del tallo visualizado en un Corte transversal (40X).....	55
<b>Figura 20</b>	:	Zona cortical del tallo visualizado en un corte transversal (40X)....	56
<b>Figura 21</b>	:	Corte transversal del tallo con presencia de células esclerénquimas, floema, cambium , xilema.....	57
<b>Figura 22</b>	:	Sistema Vascular del tallo visualizado en un corte transversal (40X).....	57
<b>Figura 23</b>	:	Corte transversal de la hoja a (10X) con reactivo de Safranina.....	58
<b>Figura 24</b>	:	Presenta abundantes tricomas no ramificados .....	58
<b>Figura 25</b>	:	Corte transversal de la Hoja (10X).....	59
<b>Figura 26</b>	:	Corte Transversal (Fresco) De Hoja 40x .....	59

<b>Figura 27</b>	:	Corte Paradermal (Envés ) De hoja 40 X .....	60
<b>Figura 28</b>	:	Corte Paradermal Del Haz De Hoja (40X) Fresco .....	60
<b>Figura 29</b>	:	Corte Paradermal Del Envés De Hoja (40x) Fresco .....	61

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo A</b>	Matriz de Consistencia .....	27
<b>Anexo B</b>	Operacionalización de las variables .....	28
<b>Anexo C</b>	Instrumentos de recolección de datos .....	29
<b>Anexo D</b>	Clasificación Taxonómica .....	32
<b>Anexo E</b>	Asesoría Externas .....	33
<b>Anexo F</b>	Evidencias de Trabajo de Campo .....	35
<b>Anexo G</b>	Agregados Importantes al Trabajo de Investigación.....	43

## RESUMEN

**Objetivo:** Hallar los componentes químicos de las hojas de *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar” y determinar su actividad citotóxica in vitro en “*Artemia salina*”.

**Métodos:** La metodología utilizada para la obtención de los componentes químicos de las hojas de *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar” fue por medio de la maceración hidroalcohólica, para así obtener finalmente el extracto seco y además, se realizó el ensayo de toxicidad CL<sub>50</sub> en larvas de *Artemia salina* exponiendo la muestra a distintas concentraciones, posteriormente se efectuó el análisis de regresión logarítmico PROBIT en el programa estadístico SPSS versión 24.

**Resultados:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar” presentó metabolitos como carbohidratos, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, terpenos, alcaloides y leucoantocianinas. En relación con el análisis de la toxicidad in vitro, se usó larvas de *Artemia salina*, donde se tuvo como resultado que la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) fue de 192.779 µg/ mL.

**Conclusiones:** Se demostró que las hojas de *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar” tiene una variedad de metabolitos primarios y secundarios. Asimismo se concluye que las hojas *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar” presentaron una actividad moderadamente tóxica en la exposición ante las larvas de *Artemia salina*.

**Palabras clave:** *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar”, *Artemia salina*, citotóxicidad, in vitro, toxicidad.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the chemical components of the leaves of *Buddleja coriacea* J. Remy "Quishuar" and to determine their in vitro cytotoxic activity in "*Artemia salina*".

**Methods:** The methodology used to obtain the chemical components of the leaves of *Buddleja coriacea* J. Remy "Quishuar" was by means of hydroalcoholic maceration, in order to finally obtain the dry extract and in addition, the toxicity test CL<sub>50</sub> was carried out in larvae of *Artemia salina* exposing the sample to different concentrations, then the PROBIT logarithmic regression analysis was carried out in the statistical program SPSS version 24.

**Results:** The hydroalcoholic extract of the leaves of *Buddleja coriacea* J. Remy "Quishuar" presented metabolites such as carbohydrates, phenolic compounds, flavonoids, tannins, terpenes, alkaloids and leucoanthocyanins. In connection with the in vitro toxicity analysis, *Artemia salina* larvae were used, which resulted in an average lethal concentration (CL<sub>50</sub>) of 192,779 µg.

**Conclusions:** The leaves of *Buddleja coriacea* J. Remy "Quishuar" were shown to have a variety of primary and secondary metabolites. It is also concluded that the leaves of *Buddleja coriacea* J. Remy "Quishuar" presented a moderately toxic activity in the exposure to the larvae of *Artemia salina*.

**Key words:** *Buddleja coriacea* J. Remy "Quishuar", *Artemia salina*, cytotoxicity, in vitro, toxicity.

## I. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS), considera a la Medicina Natural y Tradicional, donde se emplea algún malestar con plantas medicinales, como la medicina más natural, inocua, efectiva y adicionalmente el factor económico resulta un eje principal en el destino de los pacientes y se encuentran en la situación forzada de padecer y experimentar la naturaleza absoluta de los malestares, involucrando el uso de plantas medicinales para sobrellevar alguna enfermedad <sup>(1)</sup>. La OMS, ha evaluado que alrededor de un 80% para la aplicación de la medicina popular a nivel global, para la asistencia esencial que sea accesible a la salud y de gran parte a los tratamientos tradicionales que aplican el uso de extractos de plantas y las sustancias activas innatas<sup>(2)</sup>.

La acción farmacológica, la calidad y seguridad de las plantas medicinales, según la OMS son los tres aspectos más importantes que garantizan el uso racional de las plantas medicinales y debe estar validado en investigaciones que demuestren, o contribuyan a probar lo indicado por el populismo <sup>(3)</sup>.

Klim McPherson, un epidemiólogo de la Universidad de Oxford, analiza el sistema médico global y señala refiere que tomar un medicamento incrementa la probabilidad de que luego el paciente se vea en la necesidad de tomar otro, ya que padece los efectos secundarios del mismo. En parte, el autor señala que el causante principal de este dilema consiste en que la medicina actual está enfocada únicamente en la cura de los órganos y pedazos exclusivos del cuerpo, pero no en no seres humanos integrales. Es por ello que la medicación que puede ser provechosa para un aparato, no lo es para otro <sup>(4)</sup>.

“Perú es uno de los pocos países que cuenta con una amplia despensa de insumos naturales, capaces de prevenir males, aliviar todo tipo de dolencia e incluso curar paulatinamente diversas enfermedades crónicas” <sup>(5)</sup>.

“La medicina natural, a diferencia de la convencional, se basa en remedios naturales para mejorar algunas enfermedades o dolencias de nuestro organismo. Aprovecha los

productos y recursos que nos brinda la naturaleza, y se emplea sobre todo para la prevención más que para el tratamiento” (6).

“Gracias a la medicina natural se pueden prevenir muchas enfermedades y poner remedio a numerosas dolencias comunes, pero cuando se acude a las plantas medicinales hay que tener claro en todo momento que los remedios naturales son complementarios de los tratamientos médicos y que en ningún caso y bajo ningún concepto deben sustituir a las prescripciones e indicaciones que den los profesionales médicos” (7).

En la Zona de Conchucos, Provincia de Asunción, Distrito de Chacas, Dpto. De Ancash, contiene una gran biodiversidad de plantas con propiedades terapéuticas que son empleados por la población como medicina tradicional, utilizadas de distintas maneras y conocidas por el uso terapéutico tradicional, tal como lo menciona también Helen & Kees Kolff en su estudio realizado del lugar (8).

Sobre lo citado anteriormente líneas arriba, el presente proyecto pretende determinar la “Fitoquímica y actividad citotóxica in vitro en *Artemia salina* de Hojas de *Buddleja coriacea* J.Remy “*Quishuar*” Del Callejón De Conchucos, Departamento De Ancash”

El presente proyecto trata de ayudar con la problemática científica que se tiene al no haberse estudiado las plantas de la Zona de Conchucos, Dpto. De Ancash, buscando la razón de su propiedad, se tiene solo un estudio que dio la clasificación taxonómica de un grupo de especies; Los pobladores necesitan conocer el fundamento de los usos tradicionales para poder conocer la razón de las plantas de tener tales beneficios.

Enciso et al.<sup>(9)</sup> 2020, reunió toda la información científica de esta planta andina *Buddleja incana* Ruiz & Pav. con el fin de su uso en medicina alternativa y a la vez estimular grupos de investigación en los países andinos. Usando diferentes medios de búsqueda electrónica, actualmente se usa para el tratamiento de diferentes enfermedades.

Gómez M<sup>(10)</sup> 2018, realizó un estudio para determinar que los compuestos fenólicos (CF) de plantas son la fuente de principios activos fotoprotectores; Los CF han demostrado tener efecto fotoprotector in vitro e in vivo. En conclusión, el extracto metanólico obtenido de un cultivo celular de *Buddleja cordata*, al presentar un efecto fotoprotector, sin toxicidad, puede representar una fuente fotoprotector.

Siñani C., Gladys B<sup>(11)</sup> 2009, evaluó el extracto hidroalcohólico y Diclorometano/ Hidroalcohólico de la especie *Buddleja coriacea* J. Remy y se observó flavonoides, taninos, diterpenos y alcaloides, se determinó la actividad antiinflamatoria con el fármaco dexametasona en ensayos de inflamación aguda, edema plantar inducido por carragenina y edema auricular inducido por aceite de crotón en modelo murino.

Pérez Y , Moya E<sup>(12)</sup> 2019 , realizó un estudio experimental para determinar la actividad antioxidante, antiproliferativa y antiinflamatoria de las hojas de *Buddleja incana*, *Piper aduncum* y *Dracontium spruceanum*. Se observó que *B. incana* era la más potente en efecto antioxidante, *D. spruceanum* presentó más actividad antiinflamatoria y antiproliferativa.

Lagos G<sup>(13)</sup> 2018, determinó la efectividad del uso local de la infusión de *Buddleja globosa* Hope (Matico) en la cicatrización de episiorrafia en puérperas. Utilizando un enfoque de tipo prospectivo, explicativo y experimental en 70 muestras de puérperas. Obteniendo la efectividad del uso local de la infusión de matico en la cicatrización de episiorrafia.

La *Buddleja incana*, “el cocimiento se usa como astringente (para contraer la piel) en el tratamiento de la verruga y el lavado de úlceras. Las flores se usan para dar color a la comida y como tinte amarillo. Las ramitas se obtiene un tinte beige. Árbol de 4-8m.

de alto; capítulos anaranjados forman racimos redondos pequeños (3-4cm); las flores tienen un olor dulce; hojas lanceoladas y largas (10-20cm) blancas por debajo y verdes por encima; crece en los bosques a 3400-4200m.s.n.m <sup>(8)</sup>.

El proyecto tiene como finalidad ser la base de investigaciones futuras, ya que se tomaría como antecedente inicial de estudio científico con los resultados que se obtenga. Asimismo, lograremos identificar compuestos con actividad farmacológica conocida y desconocidas, proveniente de la identificación fitoquímica que se empleara en la planta *Buddleja coriacea* J.Remy, debido a que cada planta medicinal posee un conjunto de componentes que no están del todo estudiadas el cual accedería a reconocer los principios activos. Con la identificación de estas sustancias activas, conllevaría a elaborar futuras elaboraciones de medicamentos herbarios. De igual modo es de gran importancia conocer la histología vegetal de la planta de estudio.

La investigación del presente estudio tendría una proyección social porque se dará a conocer esta publicación a las autoridades locales de la zona de Conchucos (Departamento de Ancash), así estarán más informados y con una base científica de la especie botánica que ellos utilizan de manera empírica, mejorando las técnicas de cultivo y conociendo la manera correcta y las medidas que se tiene que tomar a la hora ser usado como medicina natural otorgando una revaloración a la planta de estudio.

El trabajo toma en consideración la problemática de los pobladores, y este proyecto ayuda con la investigación de la especie estudiada, debido que se necesita de un estudio científico para llenar los vacíos de falta de conocimiento que se tiene.

De acuerdo con lo mencionado anteriormente el Objetivo General del presente trabajo de investigación es : Hallar los componentes químicos de las hojas de *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar” y determinar su actividad citotóxica in vitro en “*Artemia salina*”; y los objetivos específicos para este trabajo tales como : Identificar los metabolitos secundarios que contienen las hojas de la *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar” y Determinar la actividad citotóxica in vitro de las hojas de *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar” en *Artemia salina*.

Asimismo, se formuló la siguiente hipótesis general del presente proyecto: Los componentes químicos de las hojas de *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar” presenta actividad citotóxica *in vitro* en *Artemia salina*.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación es de carácter experimental, cuantitativo, descriptivo y longitudinal. Cabe destacar que dichas características radican en la resolución de los objetivos planteados, a fin de dar una resolución efectiva a los mismos. A continuación, se procede a explicar las razones de cada categoría:

### II.1. ENFOQUE Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.

El presente estudio es de enfoque cuantitativo, ya que nos permite obtener valores numéricos mediante datos estadísticos; en cuanto al tipo de investigación es una investigación experimental, descriptiva y longitudinal:

- Es experimental debido que se realizará la medición de las variables para tener resultados.
- Es descriptiva porque evaluamos las características de las hojas de *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar” y sus componentes tanto organolépticos como fisicoquímicos<sup>(14)</sup>.
- Es longitudinal debido a que reúne informaciones de resultados cualitativos y cuantitativos en un tiempo determinado.

La investigación es experimental *in vitro* porque se estudia la muestra biológica en un laboratorio en la que se evalúan indicadores que son utilizados como parámetros de un conjunto de fenómenos observados<sup>(15)</sup>.

## II.2. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO.

Las hojas de estudio son *Buddleja coriacea* J. Remy “Quishuar” que se distribuye en nuestro territorio peruano y pertenece a la Zona de Conchucos, Provincia de Asunción, Distrito de Chacas, Dpto. De Ancash.

La población es 6kg de hojas y la muestra de la investigación que se empleó es 5kg de hojas de *Buddleja coriacea* J. Remy. Se realizó la población y muestra a investigar, teniendo en cuenta los siguientes criterios de exclusión e inclusión de la muestra:

- Criterios de exclusión: Separamos las hojas que se encontraron con hongos y de colores.
- Criterios de inclusión: Separamos las hojas en buen estado que se encontraron libre de hongos y de colores que no visualice una posible alteración.

Luego estas hojas debieron pasar por diferentes procesos para la obtención de los objetivos. La técnica de muestreo que se empleó en el presente trabajo fue Aleatorizado simple debido a que cualquiera de las plantas de *Buddleja coriacea* J. Remy ubicadas en el callejón de Conchucos, Ancash tienen la probabilidad de ser seleccionadas aleatoriamente para nuestro presente trabajo de investigación.

## II.3. VARIABLES DE INVESTIGACIÓN.

**Variable independiente (VI):** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja coriacea* J. Remy “Quishuar”

Definición conceptual: El extracto hidroalcohólico es un líquido concentrado obtenido a través del proceso de maceración de una planta o parte de ella utilizando alcohol y agua como disolventes.

Definición operacional: El extracto hidroalcohólico será evaluado en distintas concentraciones.

**Variable dependiente (VD):** La actividad citotóxica *in vitro* en *Artemia salina* de las Hojas de *Buddleja coriacea* J.Remy “quishuar”.

Definición conceptual: La capacidad de una sustancia química para causar efectos nocivos en el organismo, donde averiguamos si la sustancia en estudio es tóxica.

Definición operacional: La actividad citotóxica se medirá el tiempo de vida útil de la *Artemia salina* en diferencia concentración de la muestra y se determinará la concentración letal media CL<sub>50</sub>

## II.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

El procedimiento a utilizarse será por medio de unas tablas, en la cual se plasmará todos los resultados obtenidos luego de realizar las pruebas de solubilidad, tamizaje fitoquímico y la actividad citotóxica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja coriacea* J. Remy “quishuar”.

## II.5 PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

La especie *Buddleja coriacea* J. Remy “quishuar” fue recolectada en Zona de Conchucos, Provincia de Asunción, Distrito de Chacas, Dpto. De Ancash. Las coordenadas geográficas del distrito de Chacas: 9°15'00"S 77°22'00"O a 3359m.s.n.m. La muestra analizada de aproximadamente 3m a 4m de alto, fue recolectada camino a la laguna Patarcocha a 3 890 m.s.n.m.

El tamaño de muestra recolectada que se obtuvo, fue 6kg de muestra de *Buddleja coriacea* J. Remy “Quishuar” de origen silvestre, donde posteriormente se seleccionaron las hojas para el estudio en buen estado, libre de hongos y de colores que no visualice una posible alteración donde se obtuvo 5kg de muestra, además se recolectó flores adicionalmente para el reconocimiento taxonómico de la *Buddleja coriacea* J.Remy. Se identificó esta especie vegetal mediante métodos de herborización tradicionales, clasificándolos y colocándolo en papel Kraft. Posteriormente la muestra representativa fue clasificada e identificada por el profesional correspondiente.

En el estudio histológico se seleccionó algunos órganos vegetativos de nuestra planta de estudios (Tallo y hojas) y se efectuaron corte a mano alzada del material fresco y de muestras que fue preservadas en alcohol de 70°, algunas de ellas fueron aclaradas con hipoclorito de sodio al 30%, lavadas y luego teñidas en safranina 1%. En el portaobjeto se puso la muestra previa al enjuague con agua destilada, se procedió a la coloración, aplicándose técnicas clásicas de simple y doble coloración, según indicado D' Ambrogio de Argüeso <sup>(16)</sup>. Las secciones de tallo fueron realizadas por cortes transversales y de las hojas fueron cortes transversal y paradermal. Para el análisis de las hojas se realizaron desprendiendo la epidermis con la mano mediante un raspado con una hoja de afeitar y luego un blanqueo en hipoclorito de sodio. Las secciones histológicas, previamente seleccionadas y observadas en el microscopio compuesto, fueron teñidas con safranina o verde de metilo. Las observaciones y descripciones se llevaron a cabo en un mínimo de 5 láminas por órgano con cortes seleccionados aleatoriamente, utilizando un microscopio compuesto con objetivos de 10X y 40X. Se realizaron fotomicrografías panorámicas de los tejidos más representativos para completar la descripción.

Inmediatamente después de la recolección de las muestras, fueron transportadas a las instalaciones del laboratorio de farmacognosia de la universidad, donde se eliminaron los objetos extraños presentes en el material vegetal. Se realizó bolsas con papel Kraft para su mejor almacenamiento. Las hojas recolectadas se colocaron en la estufa para ser secadas a 40-41°C durante 48 a 72 horas; luego del secado fueron ubicadas en nuevas bolsas con papel Kraft para su conservación y posterior maceración.

Para el macerado se usó 527.9g de las hojas cortadas a mano con 3,960mL de alcohol rebajado al 80% con agua destilada, durante este proceso fue necesario confirmar la concentración con un alcoholímetro, mezclar en forma uniforme y llevarlo en frascos ámbar, porque la luz solar podría alterar su composición, el

tiempo de maceración fue de 10 días moviendo levemente el macerado cada cierto tiempo.

Luego de los días respectivos de maceración, el macerado se filtró con la ayuda de un embudo de vidrio y papel filtro Whatman, el filtrado fue un concentrado de la muestra con alcohol etílico. Se utiliza el baño maría para acelerar el proceso y posteriormente la estufa. El producto final es la muestra problema concentrada.

El proceso de extracción es un método que se lleva a cabo con el fin de lograr obtener los principios activos o metabolitos secundarios de la planta.

Se calculó el rendimiento del extracto de la siguiente manera:

$\% \text{ Rendimiento} = (\text{Peso extracto seco} / \text{Peso de hojas inicial}) \times 100$

$\% \text{ Rendimiento} = (4.5\text{g} / 527.9\text{g}) \times 100.$

La elección del solvente realizado por la prueba de solubilidad para las sustancias (metabolitos primarios y secundarios) de la muestra fueron extraídas de acuerdo a que si son solubles en un líquido o una mezcla de líquidos conocidos como solventes o líquidos extractores. Se ejecutó la extracción con solventes de diferentes polaridades: Formol 40%, Éter De Petróleo, Cloruro De Metileno, Alcohol Metílico, Alcohol Etílico, Agua Destilada, Dimetilsulfóxido (DMSO). Para realizar la prueba se pesó alrededor de 5mg de la muestra concentrada y se colocó en un tubo de ensayo, luego se añadió 2.5mL de Solvente y se utilizó el método de agitación manual y/o si fuera necesario un agitador mecánico para los tubos con muestra que no se disolvieron y corroborar la solubilidad.

Para ejecutar el análisis fitoquímico (Screening) del extracto y llevar a cabo la identificación de metabolitos primario y secundarios presentes en la especie botánica en estudio, se realizó el análisis fitoquímico con lo que se obtuvo en el filtrado concentrado con etanol como su mejor solvente. El screening fitoquímico se realizó en las instalaciones del laboratorio de Farmacognosia de la facultad de Farmacia y Bioquímica. Se disolvió una porción de la muestra con 10mL de alcohol etílico con la ayuda de un agitador mecánico y se colocó 1mL del filtrado concentrado (Muestra Problema) en diferentes tubos de ensayos para proceder con el análisis.

En la eclosión de las Artemias se colocó aproximadamente 1g de quistes de *Artemia salina* en un beaker con 300mL de solución salina (sal marina al 3.8%) para poder tener mayor población y elegir de manera aleatoria. Para la eclosión optima se controló la temperatura que se encuentre entre 25 a 30°C, el pH, salinidad e iluminación. Se produjo la descapsulación y eclosión de 24 a 48 horas hasta obtener Artemias en estadio nauplios o juveniles.

Se realizó la actividad citotóxica de la siguiente manera: para la Muestra, se pesó 60.1mg del extracto (muestra problema concentrada) y se disolvió en 2.5mL de DMSO (2% de concentración de la muestra). De la solución preparada se tomó 1.2mL y se completó con solución salina hasta 30mL en una probeta. De las Artemias, se tomó 180 Artemias nauplios o juveniles. (quistes eclosionados) para el análisis.

Para la actividad citotóxica, se sembró 10 Artemias por vial y se preparó las siguientes diluciones de la muestra problema con la solución salina preparada al 3.8% en 18 viales (3 viales por cada concentración):

**Concentración A:** Blanco, 10 mL solución salina al 3.8% de sal marina + 10 Artemias

**Concentración B:** 0.25 mL de solución MP + 9.75 mL de solución salina al 3.8% de sal marina + 10 Artemias

**Concentración C:** 0.5 mL de solución MP + 9.5 mL de solución salina al 3.8% de sal marina + 10 Artemias

**Concentración D:** 1 mL de solución MP + 9 mL de solución salina al 3.8% de sal marina + 10 Artemias

**Concentración E:** 2.5mL de solución MP + 7.5 mL de solución salina al 3.8% de sal marina + 10 Artemias

**Concentración F:** 5 mL de solución MP + 5 mL de solución salina al 3.8% de sal marina a + 10 Artemias

	A	B	C	D	E	F
<b>Solución</b>	<b>Blanco</b>	<b>Menor ← concentración MP → Mayor</b>				
<b>N°de Vial</b>	1	1	1	1	1	1
<b>N°de Vial</b>	2	2	2	2	2	2
<b>N°de Vial</b>	3	3	3	3	3	3

**Tabla 1 :** Actividad Citotóxica de la *Artemia salina*

## II.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Todos los datos recopilados fueron tratados para obtener la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) con la ayuda del análisis de regresión logarítmico PROBIT en el programa estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versión 24, este programa es una poderosa herramienta de procesamiento de datos y análisis estadístico, en el cual se realizarán los siguientes procedimientos:

La presentación de los resultados en tablas según la escala del CYTED (Ciencia y Tecnología para el desarrollo). Por ello se toma de referencia las recomendaciones del CYTED, como se indica en la siguiente tabla:

Nº	TOXICIDAD	LC <sub>50</sub> µg/mL	unidad
I	<b>Extremadamente tóxico</b>	0-10	µg/mL
II	<b>Altamente tóxico</b>	10-100	µg/mL
III	<b>Moderadamente tóxico</b>	100-500	µg/mL
IV	<b>Ligeramente tóxico</b>	500-1000	µg/mL
V	<b>Prácticamente no tóxico</b>	1000-1500	µg/mL
VI	<b>Relativamente inocuo</b>	≥1500	µg/mL

**Tabla 2: Clasificación de toxicidad según CYTED<sup>(17)</sup>.**

Las consideraciones del margen de error estadístico de 5% (variable).

## II.7. ASPECTOS ÉTICOS.

La investigación fue elaborada considerando los principios de Ética y cumpliendo con las normativas locales sobre las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) con la finalidad de usar las muestras, reactivos y otras sustancias como reactivos que puede tener impactos positivos o negativos en el ser humano y al medio ambiente. Es importante que se describa y se cumpla con los protocolos de laboratorio para respetar el medio ambiente y la seguridad de las personas de alrededor.

### III. RESULTADOS

- **Prueba de Solubilidad:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja coriacea* J.Remy "QUISHUAR", es soluble en disolventes como el alcohol etílico, alcohol metílico, formol, agua destilada y Dimetilsulfoxido e insoluble en éter de petróleo y cloruro de metileno. Siendo el mejor disolvente el alcohol etílico. (ver tabla 3 y figura 1).

Tubo	Peso de la muestra	Disolvente	Volumen Solvente	Resultados
1	5.2 mg	Formol 40%	2.5mL	+
2	5.3 mg	Éter De Petróleo	2.5mL	-
3	5.2 mg	Cloruro De Metileno	2.5mL	-
4	5.2 mg	Alcohol Metílico	2.5mL	++
5	5.1 mg	Alcohol Etílico	2.5mL	+++
6	5.2 mg	Agua Destilada	2.5mL	+
7	5.2 mg	Dimetilsulfóxido	2.5mL	+

**Tabla 3.** Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Buddleja coriacea* J.Remy "QUISHUAR"

**Leyenda:** (+++) muy soluble, (++) soluble (+) muy poco soluble, (-) insoluble.



**Figura 1:** Solubilidad de la muestra con diferentes disolventes

- **Análisis Fitoquímico:**

El extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Buddleja coriacea* J.Remy “QUISHUAR”, muestra a través de diferentes pruebas de coloración y precipitación la presencia de metabolitos primarios y secundarios, evidenciándose: carbohidratos, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos terpenos, alcaloides, leucoantocianinas (**Ver tabla 4 & figura 2**).

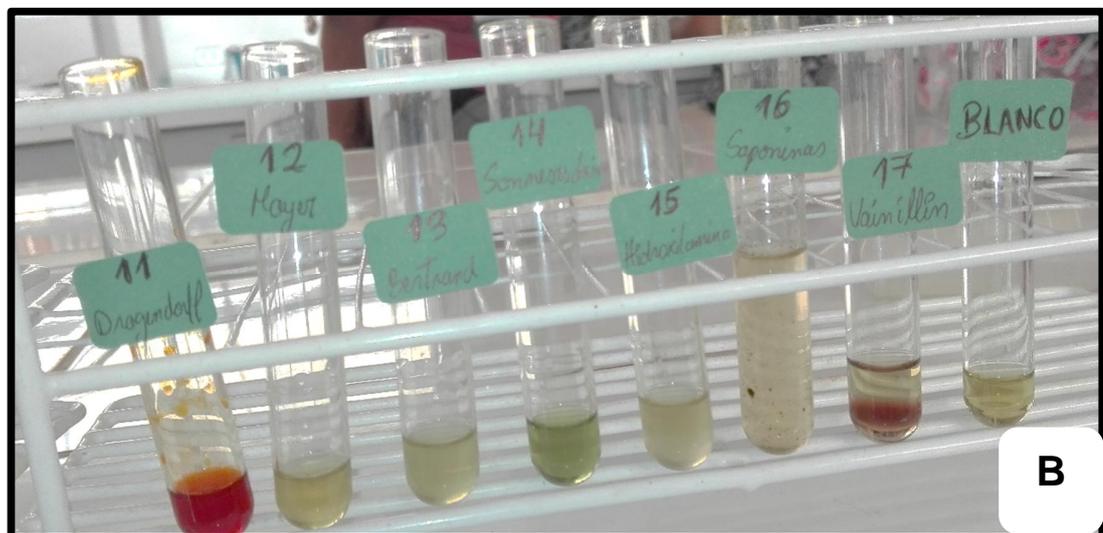
METABOLITOS	REACTIVOS	RESULTADOS	REACCION POSITIVA (Colores , precipitación )
<b>Carbohidratos</b>	Prueba Molish	+++	Anillo violeta en la interfase
	Prueba de Antrona	+++	Anillo verde azulado en la interfase
	Prueba de Fehling	-	Precipitado rojo ladrillo (presencia de azúcares reductores).
<b>Compuestos Fenólicos</b>	FeCl <sub>3</sub>	+++ -	Colores intensos: Verde (flavonoides). Azul (taninos gálicos).
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	+ -	Coloración rosado o rojo guinda, salmón (flavonoles , flavonas, flavonoles y flavononas) coloración amarilla
	Prueba de Rosenheim	+++	Precipitado rojo oscuro (Flavonoides catequicos y antocianinas)
	Prueba de Borntrager	++ Amarillo	Coloración amarilla (Isoflavonas)

<b>Taninos</b>	Prueba de Gelatina	++	Precipitado blanco lechoso
<b>Antraquinonas</b>	Prueba de Borntrager	-	Coloración rojiza
<b>Saponinas</b>	Espuma	-	Formación de espuma por más de 1cm y sea persistente
<b>Terpenos</b>	Prueba de la Vainillin-sulfurico (Rosenthaler)	+++	Anillo rojo pardo en la interfase ( <b>Triterpenos pentacíclicos</b> )
	Prueba de Lieberman - Bourchardat	++	Coloración pardo anaranjado (Triterpenoides)
<b>Esteroides</b>	Prueba de Lieberman. - Bourchardat	-	Coloración verde o azul.
<b>Alcaloides</b>	Bertrand	++	Precipitado blanco lechoso
	Dragendorff	+++	Precipitado naranja
	Reacción de Sonnenschein	++	Precipitado amarillo verdoso
	Mayer	++	Precipitado blanco
<b>Leucoantocianinas</b>	Reacción de Rosenhein	+++	Coloración rojo pardo
<b>Aminoácidos</b>	Prueba de Ninhidrina	-	Coloración violeta
<b>Esteres</b>	Prueba de Hidroxilamina	-	Precipitado rojizo

**Tabla 4.** Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Buddleja coriacea* J.Remy “QUISHUAR” .

Cantidad relativa de abundancia	Signo
No apreciable	-
Poco	+
Moderado	++
Abundante	+++

**Tabla 5:** Leyenda de interpretación de resultados



**Figura 2:** Resultados del análisis fitoquímico. A&B Precipitaciones y coloraciones

- **Actividad Citotóxica:**

**Datos:**

**Día N°1**

Conc.	N° de vial	N° Artemias vivas	N° de vial	N° Artemias vivas	N° de vial	N° Artemias vivas
<b>A</b>	<b>Vial 1</b>	8	<b>Vial 2</b>	9	<b>Vial 3</b>	7
<b>B</b>	<b>Vial 1</b>	9	<b>Vial 2</b>	9	<b>Vial 3</b>	9
<b>C</b>	<b>Vial 1</b>	8	<b>Vial 2</b>	9	<b>Vial 3</b>	10
<b>D</b>	<b>Vial 1</b>	10	<b>Vial 2</b>	10	<b>Vial 3</b>	8
<b>E</b>	<b>Vial 1</b>	3	<b>Vial 2</b>	3	<b>Vial 3</b>	2
<b>F</b>	<b>Vial 1</b>	9	<b>Vial 2</b>	3	<b>Vial 3</b>	0

**Día N°2**

Conc.	N° de vial	N° Artemias vivas	N° de vial	N° Artemias vivas	N° de vial	N°Artemias vivas
<b>A</b>	<b>Vial 1</b>	6	<b>Vial 2</b>	8	<b>Vial 3</b>	6
<b>B</b>	<b>Vial 1</b>	8	<b>Vial 2</b>	8	<b>Vial 3</b>	7
<b>C</b>	<b>Vial 1</b>	7	<b>Vial 2</b>	8	<b>Vial 3</b>	9
<b>D</b>	<b>Vial 1</b>	9	<b>Vial 2</b>	9	<b>Vial 3</b>	7
<b>E</b>	<b>Vial 1</b>	1	<b>Vial 2</b>	2	<b>Vial 3</b>	1
<b>F</b>	<b>Vial 1</b>	8	<b>Vial 2</b>	0	<b>Vial 3</b>	0

**Día N°3**

Conc.	N° de vial	N° Artemias vivas	N° de vial	N° Artemias vivas	N° de vial	N° Artemias vivas
<b>A</b>	<b>Vial 1</b>	3	<b>Vial 2</b>	0	<b>Vial 3</b>	0
<b>B</b>	<b>Vial 1</b>	3	<b>Vial 2</b>	0	<b>Vial 3</b>	0
<b>C</b>	<b>Vial 1</b>	0	<b>Vial 2</b>	0	<b>Vial 3</b>	0
<b>D</b>	<b>Vial 1</b>	0	<b>Vial 2</b>	0	<b>Vial 3</b>	0
<b>E</b>	<b>Vial 1</b>	0	<b>Vial 2</b>	0	<b>Vial 3</b>	0
<b>F</b>	<b>Vial 1</b>	1	<b>Vial 2</b>	0	<b>Vial 3</b>	0

**Tabla 6:** Resultados de la Toxicidad Día N°1, 2 & 3



**Figura 3:** Resultados de la actividad citotoxicidad de *Artemia Salina*

El análisis de nuestros resultados (Tabla 1) se realizó con el programa estadístico SPSS versión 24.

Concentración del extracto de hojas (ug/mL)	Log <sub>10</sub> (C)	Nº de Artemias	Nº de Artemias muertas	% de mortalidad	CL50 (ug/mL)
0		10	0	0	192.779
24.00	1.38	10	2	20	
48.10	1.68	10	3	30	
96.20	1.98	10	3	30	(102.612 - 318.660)
240.40	2.38	10	6	60	
480.80	2.68	10	9	90	

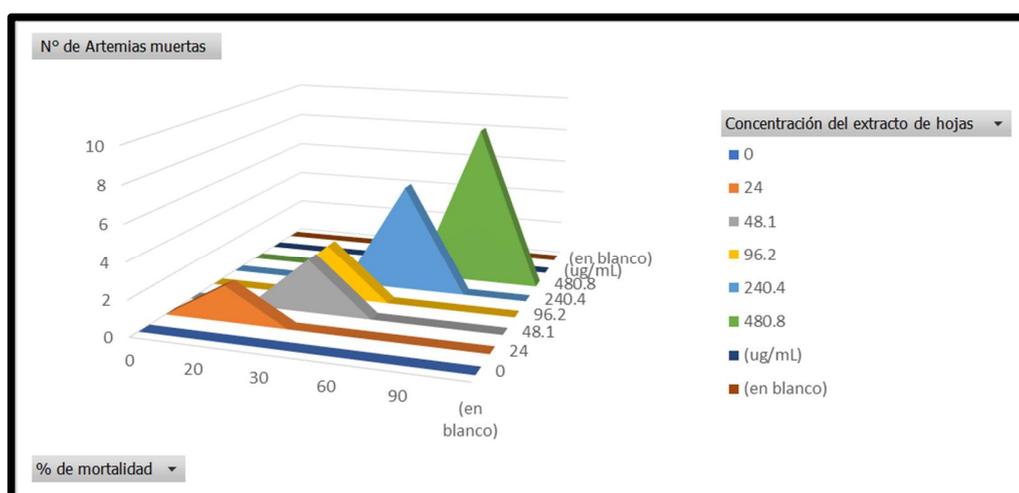
**Tabla 7 :** Resultados con el programa estadístico SPSS versión 24.

N	Toxicidad	ug/mL
1.	<b>Extremadamente tóxico</b>	<b>0-10</b>
2.	<b>Altamente tóxico</b>	<b>10-100</b>
3.	<b>Moderadamente tóxico</b>	<b>100-500</b>
4.	<b>Ligeramente tóxico</b>	<b>500-1000</b>
5.	<b>Prácticamente no tóxico</b>	<b>1000-1500</b>
6.	<b>Relativamente inocuo</b>	<b>&lt;1500</b>

**Tabla 2.** Clasificación de toxicidad según CYTED

La Evaluación de la citotoxicidad en *Artemia salina* del extracto hidroalcohólico de hojas “quishuar”, se determinó con la concentración letal media (CL50) fue de 192.779  $\mu\text{g/mL}$  con una confiabilidad al 95% de 102.612 $\mu\text{g/mL}$  y 318.660 $\mu\text{g/mL}$ .

En el estudio de la actividad citotóxica del extracto hidroalcohólico de hojas “quishuar”, por el método del bioensayo de citotoxicidad en *Artemia salina*, se obtuvo la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de 192.779 $\mu\text{g/mL}$  (Tabla 1); resultados que de acuerdo a la escala del CYTED, el extracto hidroalcohólico es moderadamente tóxico.



**Figura 4:** Análisis estadístico de la actividad de citotoxicidad. A mayor concentración de la muestra problema encontramos mayor % de mortalidad de *Artemia salina*.

## IV. DISCUSIÓN

### IV.1 Discusión de Resultados

En las industrias farmacéuticas elaboran diferentes tipos de medicamentos que está constituida de una o más sustancias activas responsables de la acción terapéutica y por excipientes que ayuda en la administración y el mantenimiento de las cualidades del medicamento. Asimismo, hay que considerar que los productos vegetales son los abastecedores para la elaboración de fármacos, así como para la población doliente en la utilización inmediata cuando lo requiere. Las plantas medicinales están recibiendo una atención muy particular, debido a su uso por la población en los países en desarrollo. Nuestro país debido al difícil acceso a los servicios de salud, la población se ve obligada a utilizar las plantas medicinales. El presente trabajo de investigación se constituye en un modelo de Evaluación Farmacológica para el uso de nuestra planta debido a que tiene diferente acciones antiinflamatoria, dermatológicas y otras en el uso popular de las personas, es necesario destacar que el aporte científico que presentamos, permitirá a la población que utiliza el extracto de hojas de esta planta “Quishuar” como medicina popular en esta provincia y tenga la garantía de su acción farmacológica y se genere en la industria la posibilidad de continuar en la investigación hasta descifrar su composición química y elaborar una forma farmacéutica que garantice su efecto terapéutico. Los resultados de esta investigación brindan información importante sobre la Fitoquímica y actividad citotóxica in vitro en *Artemia salina* de las hojas de *Buddleja coriacea* J. Remy “Quishuar” y debido a su consumo de esta planta de manera empírica se realizó el estudio de Toxicidad para contribuir con la seguridad de su uso al ser consumidos por los pobladores del distrito (Infusión) y de otras regiones de manera natural. El extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar ”obtuvo un rendimiento de 0.9 % de la extracción por maceración.

La marcha de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar” demostró ser soluble disolvente como formol al 40%, DMSO, agua destilada, alcohol etílico y alcohol metílico, además, es insoluble en éter

de petróleo y cloruro de metileno, como se muestra en la tabla 3 y en la figura 1. El alcohol etílico es el solvente de mayor solubilidad, el que facilitó la extracción de principios activos y secundarios solubles en solventes polares, tal como lo manifiesta Olga Lock de Ugaz en su obra Investigación fitoquímica <sup>(18)</sup>. La extracción por maceración hidroalcohólica (alcohol etílico & agua destilada) es generalmente más eficaz para obtener la mayoría de metabolitos secundarios, sin alterarlos por efectos de temperatura, además este solvente tiene la capacidad de extraer compuestos de una amplia gama de polaridades, es menos tóxico y costoso que otros solventes orgánicos; sin embargo, se necesitan periodos mucho más extensos para lograr una extracción adecuada.

En el ensayo experimental como lo dice Siñani G <sup>(13)</sup>., al realizar la marcha Fitoquímica de los extractos Hidroalcohólico y diclorometano/ hidroalcohólico de la especie de estudio, se observa la presencia de metabolitos tipo Flavonoides, taninos, diterpenos y alcaloides en menor concentración. Sin embargo, en nuestro trabajo de investigación se determinó además de los metabolitos indicados anteriormente excepto diterpeno y se evidencia la presencia de carbohidratos, compuestos fenólicos, terpenoides y leucoantocianinas.

En la investigación de Gomez M. <sup>(10)</sup>, determino que en los extractos metanólicos de la *Buddleja incana* se evidenció los siguientes metabolitos Flavonoides, esteroides , saponinas y leucoantocianidinas el cual difiere con nuestro estudio fitoquímico de nuestra especie debido a que no se evidencio la presencia de Esteroides y saponinas; corroborando que existe diferencia de metabolitos presentes en cada especie a pesar que se encuentre dentro de una misma familia de la Buddleja.

Como se visualiza en la tabla 4 y figura 2. Esto ha sido presentado tanto en la obra Investigación fitoquímica de Olga Lock de Ugaz <sup>(18)</sup> como en Método de investigación fitoquímica de Domínguez X <sup>(19)</sup>. Estos fueron identificados por diferentes métodos en el cual se evidencia la precipitación o coloración en los tubos de ensayo donde se identificó el tipo de metabolito. Aunque nosotros utilizamos otro tipo de disolvente como el etanólico donde se pudo evidenciar presencia de alcaloides, lo que puede indicar que esta especie pueda ser tóxica. Este metabolito puede estar relacionado con el

medio ambiente por el cual la planta se desarrolla a pesar que sus genotipos podrán ser iguales el ámbito geográfico es diferente.

Se evidencia la presencia de Flavonoides donde se identificó las isoflavonas al realizar la prueba de coloración de Borntreger evidenciando una coloración amarilla. Las isoflavonas tienen como propiedad antiestrogénica el cual inhibe el crecimiento de células cancerosas <sup>(20)</sup>.

Algunas especies del género *Buddleja* contienen terpenos y aceites esenciales a los cuales se les atribuye propiedades antifúngica, citotóxica y antimicrobiana. <sup>(34)</sup>

Se demostró que los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Buddleja coriacea* J. Remy "QUISHUAR" presentan moderadamente actividad citotóxica, esta se determinó mediante el bioensayo de citotoxicidad en *Artemia salina* donde los resultados de la CL<sub>50</sub> fue 192.779 µg/mL con una confiabilidad al 95% de 102.612µg/mL y 318.660µg/mL. Esto puede ser atribuido a la presencia de alcaloides o al tipo de solventes empleado que pudieron ser visualizados en el análisis fitoquímico preliminar, quedando pendientes la posibilidad de realizar pruebas adicionales utilizando otros organismos de la planta y diferentes tipos de solventes para extraer y evaluar la composición química que garantice el uso terapéutico.

## IV.2 Conclusiones

Los análisis realizados nos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- Se identificó la presencia de metabolitos primarios como carbohidratos y metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, flavonoides, taninos terpenos, alcaloides, leucoantocianinas en las hojas de *Buddleja coriacea* J.Remy "QUISHUAR" .
- Se determinó la toxicidad CL<sub>50</sub>: 192.779 µg/ mL, considerada moderadamente tóxico de las hojas de la *Buddleja coriacea* J. Remy "Quishuar". en *Artemia salina*.

### IV.3 Recomendaciones

1. En base a los resultados obtenidos en el estudio, se recomienda a los futuros investigadores desarrollar otro tipo de técnicas experimentales a fin de que los resultados de esta investigación sobre la planta tengan mayor sustento. Asimismo, utilizar otras partes de la planta para sus estudios debido a sus diferentes componentes que puede tener nuestra planta de investigación.
2. Realizar a cabo la prueba de cromatografía en capa fina para poder comparar la claridad de los metabolitos en la placa cromatográfica y la cuantificación de los compuestos por la prueba de espectrofotométricas UV y HPLC
3. Evitar el consumo en exceso de las hojas *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar”, porque podrían producir efectos tóxicos en el organismo.
4. Promover el estudio de *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar”, ya que posee un gran potencial para futuras investigaciones. Pues los metabolitos que esta presenta, pueden poseer otras propiedades terapéuticas para lo cual se deberá realizar un monitoreo para detectar la mayor cantidad de compuestos con posibilidad de actividad farmacológica.
5. Continuar realizando estudios fitoquímicos y a la vez estudios farmacológicos de la especie *Buddleja coriacea* J.Remy “Quishuar”, para obtener sustento científico en propiedades medicinales de acuerdo a los metabolitos secundarios encontrados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Soria N. Las Plantas Medicinales y su aplicación en la Salud Pública. Rev. salud publica Paraguay. [Internet]. 2018 [Fecha de acceso 26 de Octubre del 2020]; Vol.8 N<sup>o</sup>.1. URL disponible en: <http://scielo.iics.una.py/pdf/rspp/v8n1/2307-3349-rspp-8-01-7.pdf>
2. Bermúdez A, et al. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. Interciencia [Internet]. 2005 [Fecha de acceso 26 de Octubre del 2020]; 30(8):453-459.URL Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33910703>
3. Morón J. Las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud acerca del uso de los tratamientos tradicionales. Rev. Cubana Plant Med [Internet]. 2008 [Fecha de acceso 27 de Octubre del 2020]; 13(4). URL Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S102847962008000400001&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962008000400001&lng=es)
4. Martínez A. Vivimos en una sociedad en la que las medicinas que tomamos nos enferman, ¿no será mejor dejar de tomarlas? Pijamasurf [Internet]. [Fecha de acceso 27 de Noviembre de 2020] URL disponible en <https://pijamasurf.com/2015/05/vivimos-en-un-mundo-en-el-que-las-medicinas-que-tomamos-nos-enferman-no-sera-mejor-dejar-de-tomarlas/>
5. Perú. Conoce las diversas plantas medicinales que ofrece el Perú. Perú [Internet]. [Fecha de acceso 10 de Noviembre de 2020] URL disponible en <https://peru.info/es-pe/gastronomia/noticias/2/12/las-plantas-medicinales-que-ofrece-el-peru>
6. Mejor con salud. Medicina natural, ¿qué nos aporta? Mejor con salud [Internet]. [Fecha de acceso 14 de Diciembre de 2020] URL disponible en <https://mejorconsalud.com/medicina-natural-que-nos-aporta/>
7. Siglo XXI. Beneficios de la medicina natural para la salud. Siglo XXI [Internet]. [Fecha de acceso 14 de Diciembre de 2020] URL disponible en

<http://www.diariosigloxxi.com/texto-diario/mostrar/1266955/beneficios-medicina-natural-salud>.

8. Kolff Helem, Kolff Kees. Flores Silventres de la Cordillera Blanca. 2da edición. Perú: Edit. Instituto de montaña, 2005.
9. Enciso J, et al. Uso etnomedicinal, fitoquímica y actividad biológica de la planta andina Buddleja incana Ruiz & Pav. (Scrophulariaceae). Ethnobotany Research & Applications. [Internet]. 2020 [Fecha de acceso 26 de octubre de 2020] Vol.20 .URL disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/342089530\\_Uso\\_etnomedicinal\\_fitoquimica\\_y\\_actividad\\_biologica\\_de\\_la\\_planta\\_andina\\_incana\\_Ruiz\\_Pav\\_Scrophulariaceae/link/5f11e8164585151299a1ef09/download](https://www.researchgate.net/publication/342089530_Uso_etnomedicinal_fitoquimica_y_actividad_biologica_de_la_planta_andina_incana_Ruiz_Pav_Scrophulariaceae/link/5f11e8164585151299a1ef09/download)
10. Gomez M, Evaluación in vitro del efecto fotoprotector de un extracto obtenido del cultivo celular de Buddleja cordata. [Tesis de Licenciatura]. México: Universidad Autónoma del Estado de México; 2018
11. Siñani C., Gladys B. Determinación de la Actividad Antiinflamatoria E Interacción de Extractos de la Planta Kiswara (coriacea Remy) con Dexametasona, mediante los ensayos de edema plantar y auricular en modelo murino. [Tesis de Pregrado] Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés; 2009.
12. Peres Y.,Moya E. Evaluación de la actividad antiproliferativa, antioxidante y antiinflamatoria in vitro del extracto metanólico de hojas de Piper aduncum, Buddleja incana y Dracontium spruceanum [Tesis de Magister]. Lima: Universidad Nacional de Mayor de San Marcos; 2019.
13. Lagos G. Efectividad del uso local de la infusión de Buddleja globosa hope (Matico) en la cicatrización de episiorrafia en puérperas atendidas en el hospital regional Hermilio Valdizán Medrano Diciembre 2018 - Enero 2019 [Tesis de Segunda Especialidad]. Huánuco: Universidad de Huánuco; 2019

14. Gómez Marcelo M. Introducción a la Metodología de la Investigación Científica. Argentina: Ed Brujas; 2006
15. Cameán Ana, Repetto Manuel. La aplicación de procedimientos in vitro en la evaluación toxicológica alimentaria. En: Repetto Guillermo, Zurita Jorge, Del Peso Ana. (eds.) Toxicología Alimentaria. España: Ediciones Díaz de Santos; 2012. p. 95-100.
16. D'Ambrogio de Argüeso, A. (1986) Manual tecnológico sobre histología vegetal. Hemisferio Sur. S.A., Buenos Aires, 54-59.
17. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Manual de Técnicas de Investigación para productos administrados por vía oral, Colombia CYTED (1995).
18. Leck De Ugaz O. Investigación Fitoquímica Métodos en el Estudio de Productos Naturales: PUCP Fondo Editorial Lima 1° Edición 1988, 2° Edición Lima; 1994.
19. Domínguez X. Métodos de Investigación Fitoquímica. Ed. Limusa S.A. México; 1985.
20. Bonilla C. Isoflavonas en Ginecología, Terapia No convencional:: Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología . [Internet]. 2004 [Fecha de acceso 15 de Febrero del 2021]; Vol. 55 No.3 URL disponible en : <http://www.scielo.org.co/pdf/rcog/v55n3/v55n3a05.pdf>

## ANEXOS

### ANEXO A . MATRIZ DE CONSISTENCIA

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
¿Los componentes químicos de las hojas de <i>Buddleja coriacea</i> J. Remy “Quishuar” presentarán actividad citotóxica in vitro en <i>Artemia salina</i> ?	Hallar los componentes químicos de las hojas de <i>Buddleja coriacea</i> J. Remy “Quishuar” y determinar su actividad citotóxica in vitro en “ <i>Artemia salina</i> ”	Los componentes químicos de las hojas de <i>Buddleja coriacea</i> J. Remy “Quishuar” presenta actividad citotóxica in vitro en <i>Artemia salina</i> .
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
¿Cuáles son los metabolitos secundarios que contienen las hojas de la <i>Buddleja coriacea</i> J. Remy “Quishuar”?	Identificar los metabolitos secundarios que contienen las hojas de la <i>Buddleja coriacea</i> J. Remy “Quishuar”.	El extracto de las hojas de <i>Buddleja coriacea</i> J.Remy “Quishuar” presenta metabolitos secundarios.
¿Cuál es la actividad citotóxica in vitro de las hojas de <i>Buddleja coriacea</i> J. Remy “Quishuar” en <i>Artemia salina</i> ?	y Determinar la actividad citotóxica in vitro de las hojas de <i>Buddleja coriacea</i> J. Remy “Quishuar” en <i>Artemia salina</i>	El extracto de las hojas de <i>Buddleja coriacea</i> J.Remy “Quishuar” presenta actividad citotóxica in vitro
<b>PROCEDIMIENTO PARA COLECTA DE DATOS USANDO PARA LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD , MARCHA FITOQUIMICA Y ACTIVIDAD CITOTOXICA :</b>		
<p>Para la prueba de solubilidad se utilizará el formato de C.2 el cual está conformado para la prueba de solubilidad</p> <p>Para la prueba de marcha fitoquímica se utilizará el formato de C.3 el cual está conformado por las pruebas coloraciones y resultados.</p> <p>Para determinar la actividad citotóxica se utilizará el formato C.4 donde indica las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico con las Artemias salinas</p>		

## ANEXO B. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	VALOR
<p><b>Variable independiente (VI):</b> El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Buddleja coriacea</i> J. Remy "Quishuar"</p>	<p>El extracto hidroalcohólico es un líquido concentrado obtenido a través del proceso de maceración de una planta o parte de ella utilizando alcohol y agua como disolventes.</p>	<p>El extracto hidroalcohólico será evaluado en distintas concentraciones.</p>	<p>Concentraciones</p>	<p>24.00 ug/mL 48.10 ug/mL 96.20 ug/mL 240.40 ug/mL 480.80 ug/mL</p>	<p>Cualitativo</p>	<p>ug/mL</p>
<p><b>Variable dependiente (VD):</b> La actividad citotóxica <i>in vitro</i> en <i>Artemia salina</i> de las Hojas de <i>Buddleja coriacea</i> J.Remy "Quishuar".</p>	<p>La capacidad de una sustancia química para causar efectos nocivos en el organismo, donde averiguamos si la sustancia en estudio es tóxica.</p>	<p>La actividad citotóxica se medirá el tiempo de vida útil de la <i>Artemia salina</i> en diferencia concentración de la muestra y se determinará la concentración letal media CL<sub>50</sub></p>	<p>Ensayo de Artemia salina</p>	<p>Factores de adecuación de la prueba  Tiempo de crecimiento de Artemia salina.  Número de artemias muertas</p>	<p>Cuantitativa</p>	<p>CL<sub>50</sub> ug/mL</p>

## ANEXO C . INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS

### Anexo C1- DATOS DE LA PLANTA A UTILIZAR

DATOS	RESULTADOS
Nombre común	Quishuar
Nombre científico	<i>Buddleja coriacea</i> J.Remy
Lugar de recolección	Zona de Conchucos, Provincia de Asunción, Distrito de Chacas, Dpto. De Ancash. Las coordenadas geográficas del distrito de Chacas:
Parte de la planta a utilizar	Hoja
Extracto a utilizar	Extracto Hidroalcohólico

### Anexo C2 - PRUEBA DE SOLUBILIDAD

TUBO	PESO DE LA MUESTRA	DISOLVENTE	VOLUMEN SOLVENTE	RESULTADOS
1	5.2 mg	Formol 40%	2.5mL	
2	5.3 mg	Éter De Petróleo	2.5mL	
3	5.2 mg	Cloruro De Metileno	2.5mL	
4	5.2 mg	Alcohol Metílico	2.5mL	
5	5.1 mg	Alcohol Etílico	2.5mL	
6	5.2 mg	Agua Destilada	2.5mL	
7	5.2 mg	Dimetilsulfóxido	2.5mL	

### Anexo C3-MARCHA FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO

METABOLITOS	REACTIVOS	RESULTADOS
<b>Carbohidratos</b>	Prueba Molish	
	Prueba de Antrona	
	Prueba de Fehling	
<b>Compuestos Fenólicos</b>	FeCl <sub>3</sub>	
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	
	Prueba de Rosenheim	
	Prueba de Borntrager	
<b>Taninos</b>	Prueba de Gelatina	
<b>Antraquinonas</b>	Prueba de Borntrager	
<b>Saponinas</b>	Espuma	
<b>Terpenos</b>	Prueba de la Vainillin-sulfurico (Rosenthaler)	
	Prueba de Lieberman - Bourchardat	
<b>Esteroides</b>	Prueba de Lieberman. - Bourchardat	
	Bertrand	

<b>Alcaloides</b>	Dragendorff	
	Reacción de Sonnenschein	
	Mayer	
<b>Leucoantocianinas</b>	Reacción de Rosenhein	
<b>Aminoácidos</b>	Prueba de Ninhidrina	
<b>Esteres</b>	Prueba de Hidroxilamina	

**Anexo C4 - RESULTADOS DEL PROGRAM ESTADISTICO SPPS**  
**Versión 24**

<b>Concentración del extracto de hojas (ug/mL)</b>	<b>Log<sub>10</sub>(C)</b>	<b>N° de Artemias</b>	<b>N° de Artemias muertas</b>	<b>% de mortalidad</b>	<b>CL50 (ug/mL)</b>
<b>0</b>					
<b>24.00</b>	<b>1.38</b>				
<b>48.10</b>	<b>1.68</b>				
<b>96.20</b>	<b>1.98</b>				
<b>240.40</b>	<b>2.38</b>				
<b>480.80</b>	<b>2.68</b>				

## ANEXO D. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Hamilton W. Beltrán S.  
Consultor Botánico  
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María  
hamiltonbeltran@yahoo.com

### CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo Botánico, certifica que la planta conocida como "QUISHUAR" proporcionada por, LOURDES MILENA OCHOA ROJAS y PABLO CESAR ARIAS VILLEGAS, Tesistas de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Buddleja coriacea* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae  
División: Magnoliophyta  
Clase: Magnoliopsida  
Subclase: Asteridae  
Orden: Scrophulariales  
Familia: Buddlejaceae  
Género: *Buddleja*  
Especie: *Buddleja coriacea* J. Rémy

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 19 marzo 2017

  
Blgo. Hamilton Beltrán

Hamilton Wilner Beltrán Santiago  
Biólogo - Botánico  
C.B.P. 2719

## ANEXO E. ASESORIA EXTERNAS

### CARTA DE ASESORÍA EN LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO DE TESIS

Yo, Pablo Enrique Bonilla Rivera de profesión Químico Farmacéutico con Colegiatura N°...902....., y Grado Académico de Doctor..... en...Farmacia y Bioquímica... , ex -docente de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega y actual Profesor Principal TC, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos , declaro haber ASESORADO temáticamente el proyecto de tesis cuyo título es :

**“FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD CITOTÓXICA IN VITRO EN *ARTEMIA SALINA* DE HOJAS DE *Buddleja Coriacea* Remy “QUISUAR” DEL CALLEJÓN DE CONCHUCOS, DEPARTAMENTO DE ANCASH”**

Cuyos autores son los Bachilleres Lourdes Milena Ochoa Rojas y Pablo Cesar Arias Villegas.

Así mismo declaro **APROBADO**, dicho trabajo de investigación en lo concerniente a la revisión de mi especialidad, quedando por resolver la revisión metodológica respectiva.

Para la Constancia de lo declarado, firmo la presente carta.



Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera

DNI 07212707

Lima 29 de Marzo del 2021.

## **CARTA DE ASESORÍA EN LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO DE TESIS**

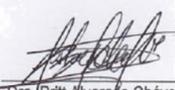
Yo, Britt Alvarado Chávez, de profesión Químico Farmacéutico y Bioquímico, con Colegiatura N° 08789, Doctora en Farmacia y Bioquímica, ex-docente de la Facultad de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, declaró haber ASESORADO temáticamente el proyecto de tesis cuyo título es:

**“FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD CITOTÓXICA IN VITRO EN *ARTEMIA SALINA* DE HOJAS DE *Buddleja Coriaceae* Remy “QUISUAR” DEL CALLEJÓN DE CONCHUCOS, DEPARTAMENTO DE ANCASH”,** Cuyos autores son los Bachilleres Lourdes Milena Ochoa Rojas y Pablo Cesar Arias Villegas.

Así mismo declaro **APROBADO**, dicho trabajo de investigación en lo concerniente a la revisión de mi especialidad, quedando por resolver la revisión metodológica respectiva.

Para la Constancia de lo declarado, firmo la presente carta.

Lima, 29 de Marzo del 2021.



Dra. Britt Alvarado Chávez  
Asesora de tesis

## ANEXO F : EVIDENCIAS DE TRABAJO DE CAMPO

Ubicación geográfica:

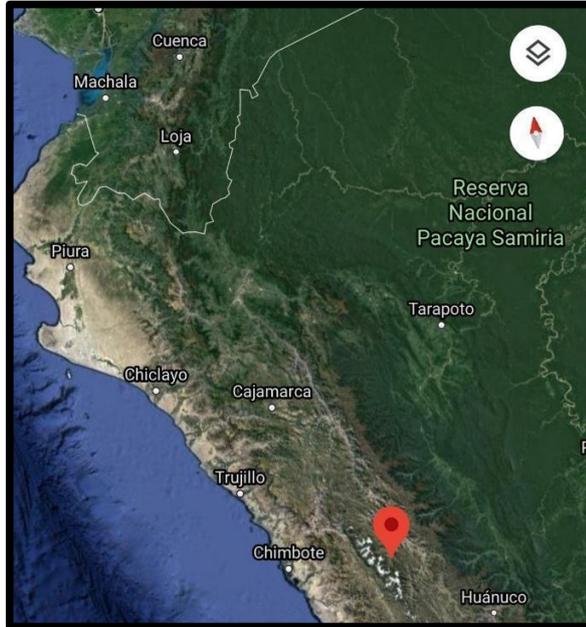


Figura 5. Ubicación geográfica de colecta de la región de Chachas , Dpta. De Ancash (Imagen obtenida de Google maps)



Figura 6. Arbusto del Quishuar



Figura 7. Corteza del tallo



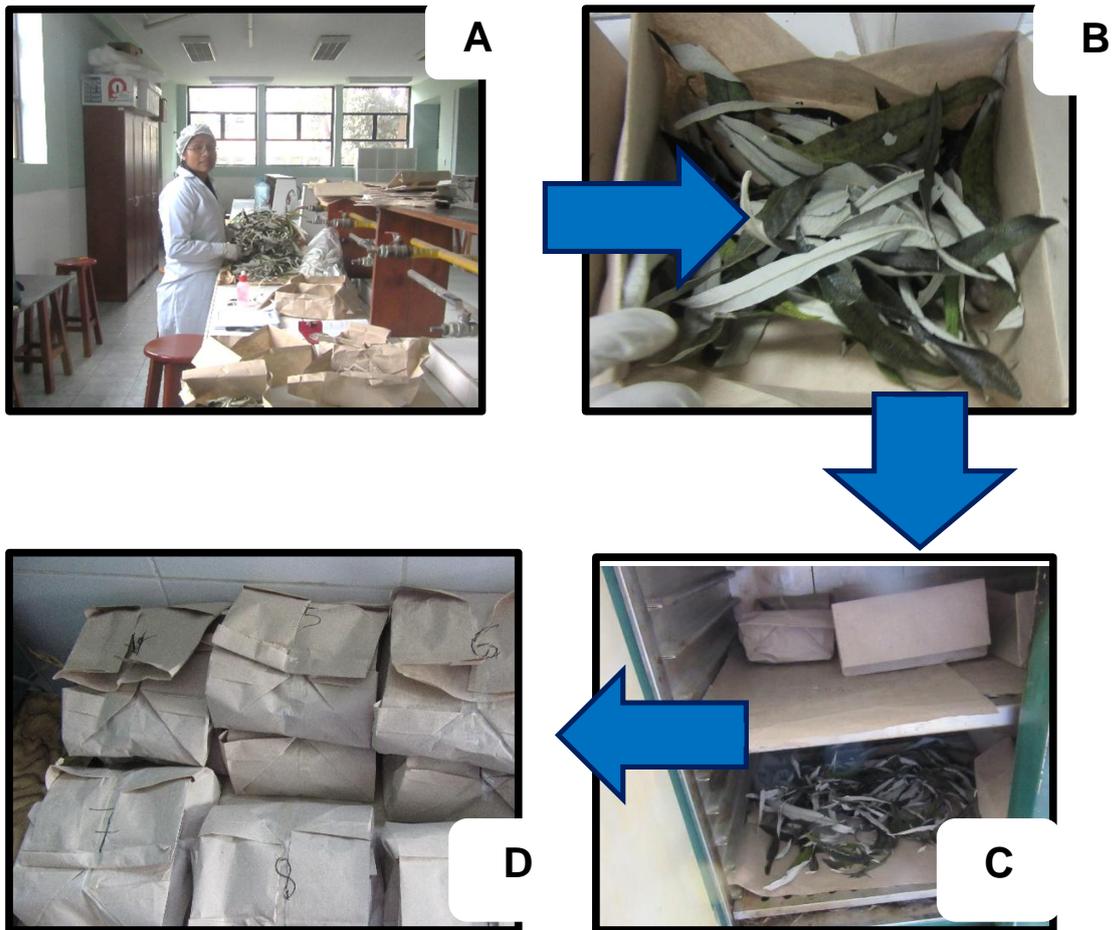
**Figura 8.** Hoja (Cara superior)



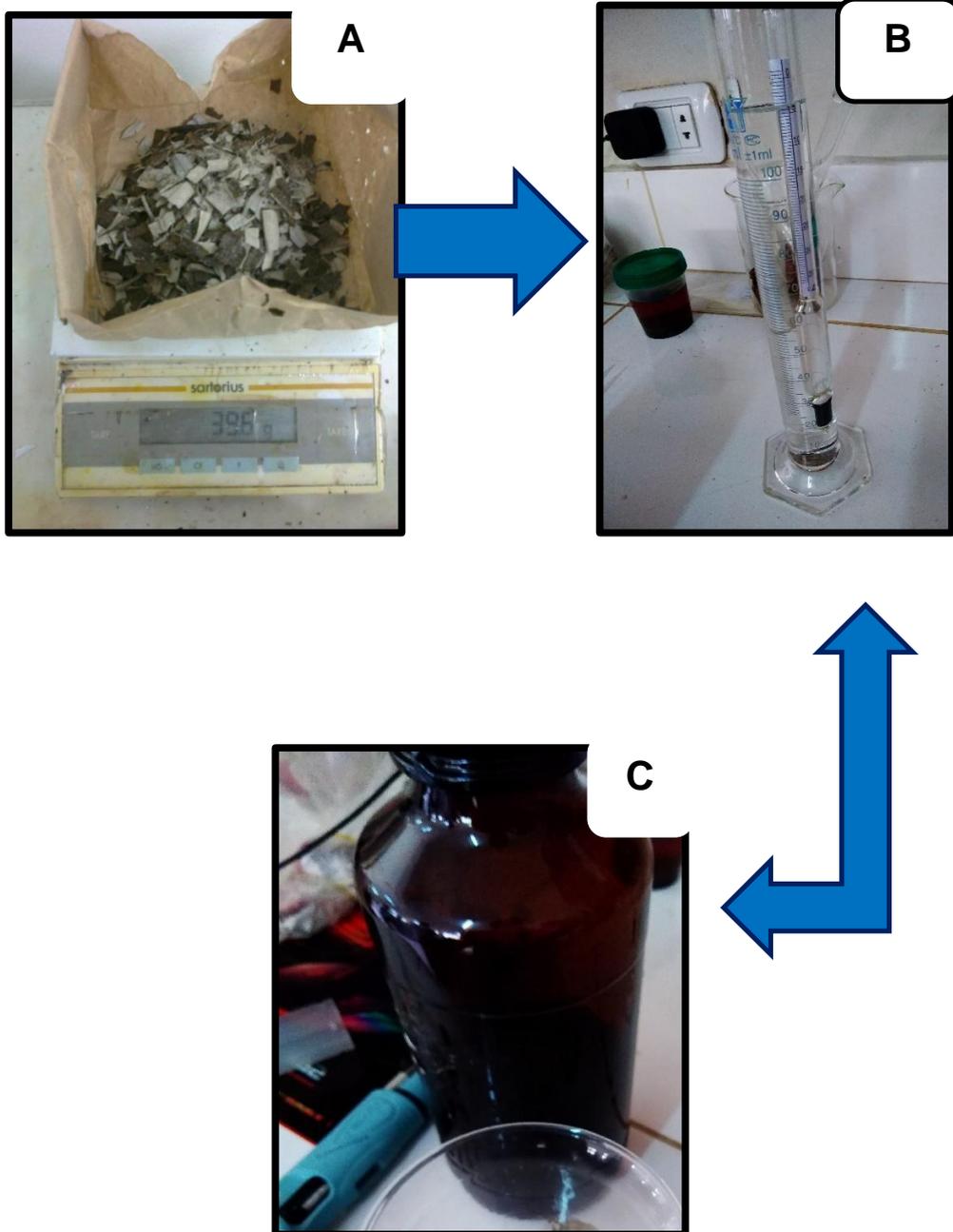
**Figura 9.** Hoja (Cara inferior)



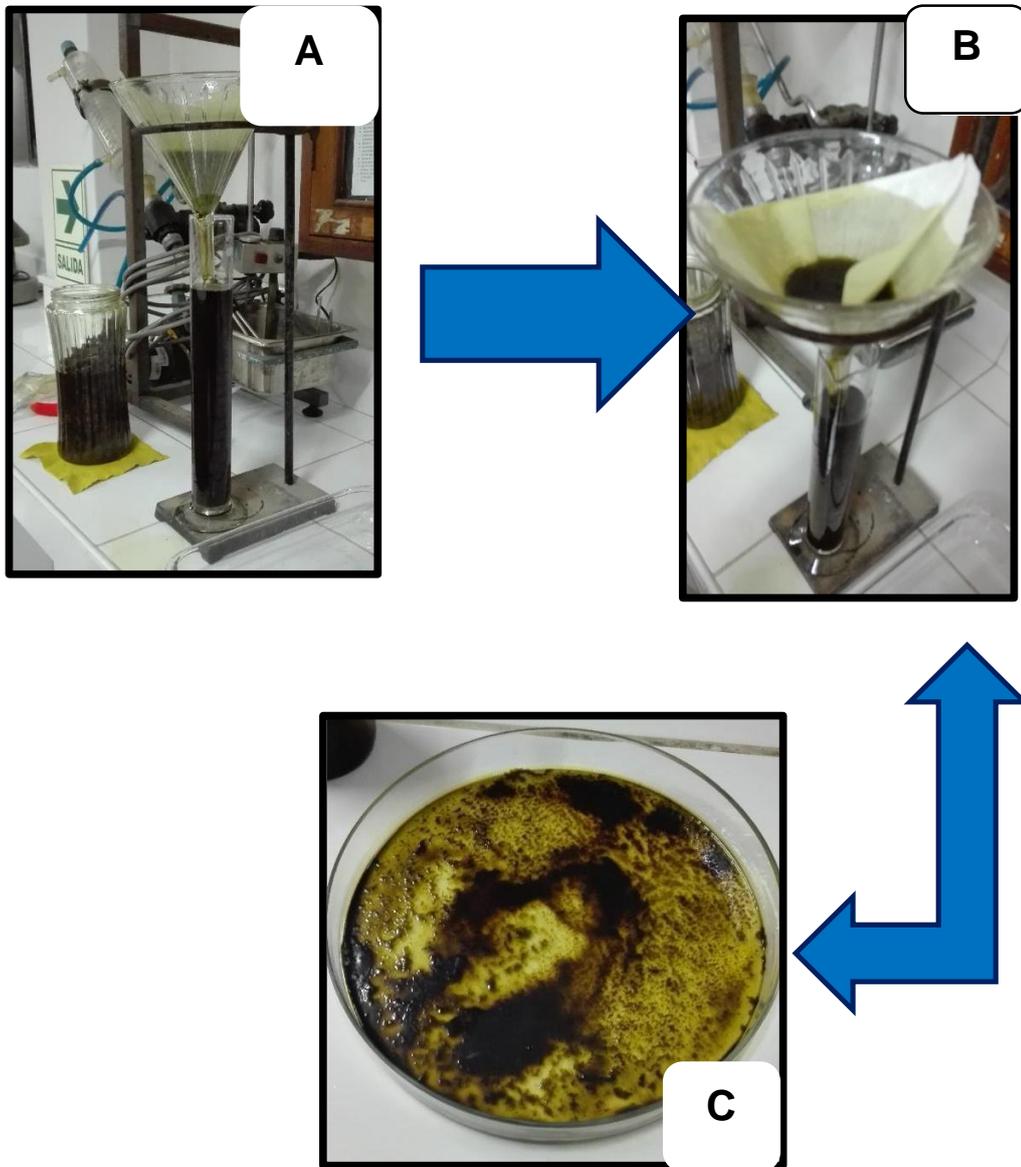
**Figura 10:** Inflorescencia y Flores de Quishuar de la provincia de Chanca



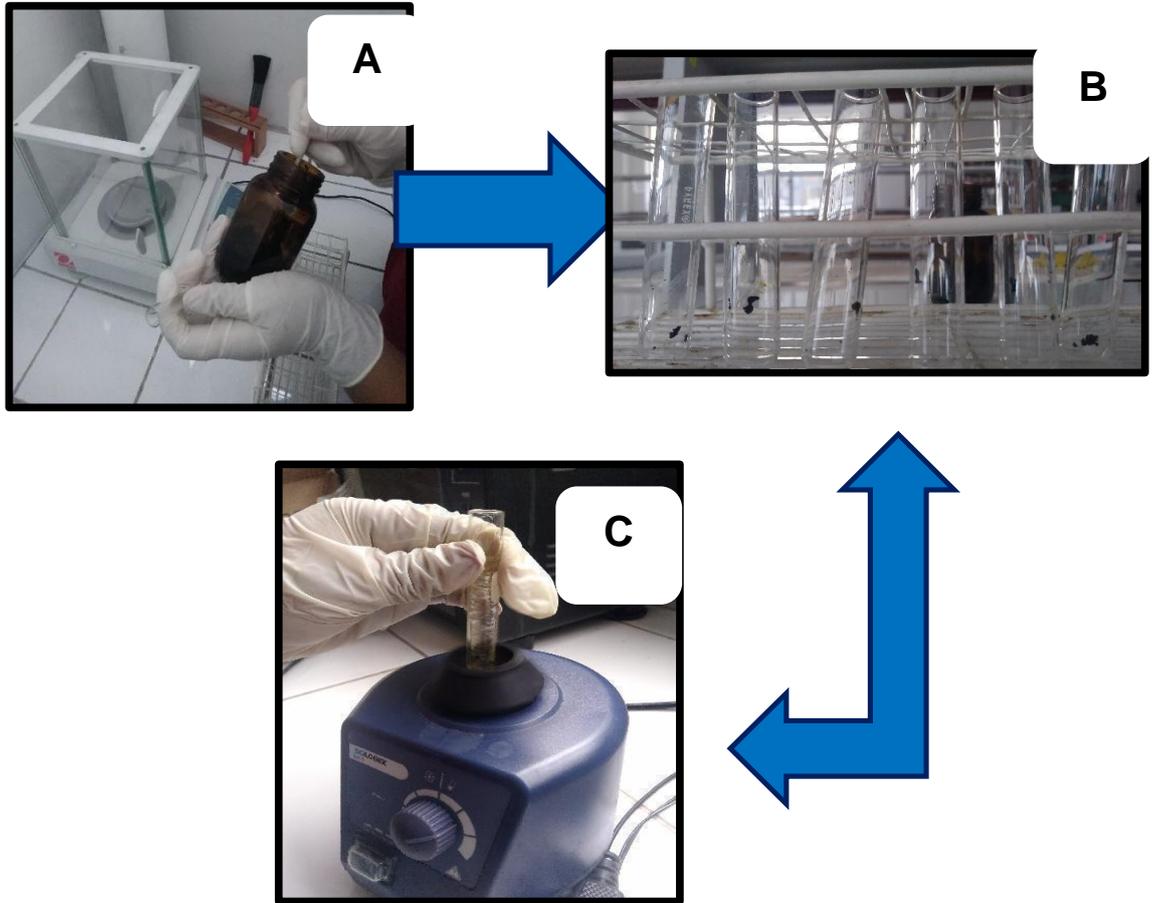
**Figura 11 :** Preparación de la muestra. A) Selección de muestra, B) Conservar en sobre de Papel Kraft . C) Secado de las hojas en estufa, D) Conservación de la muestra



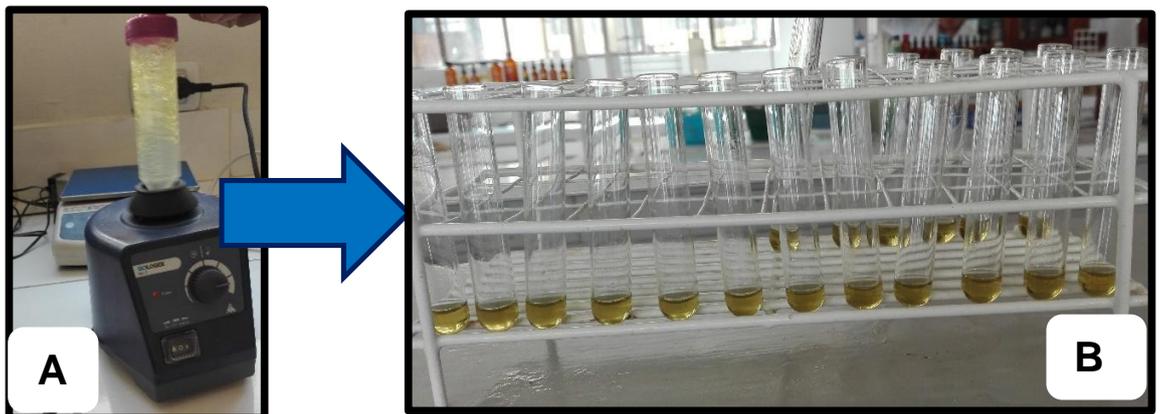
**Figura 12:** Preparación del macerado. A) Pesado de la muestra, B) Alcohol al 80% , C) Almacenamiento del macerado en frasco ámbar



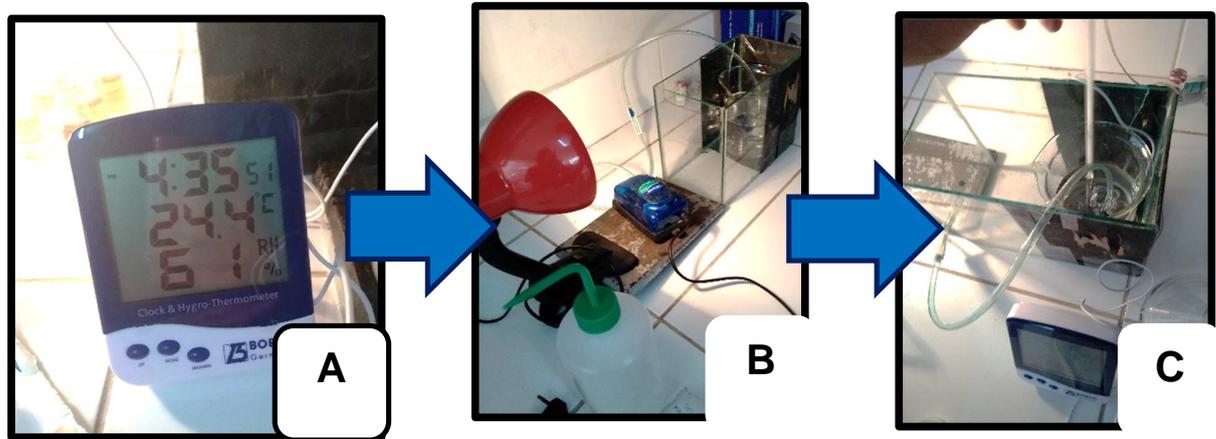
**Figura 13:** Obtención de la Muestra concentrada. A) & B) filtración de la muestra con papel filtro, C) Muestra concentrada



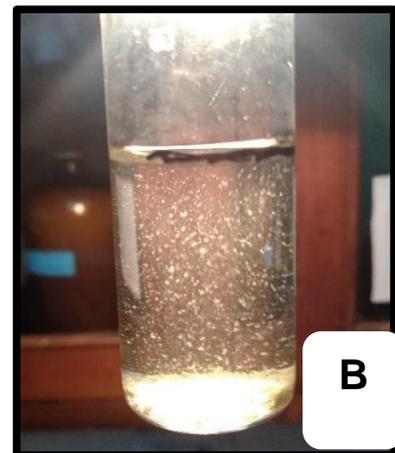
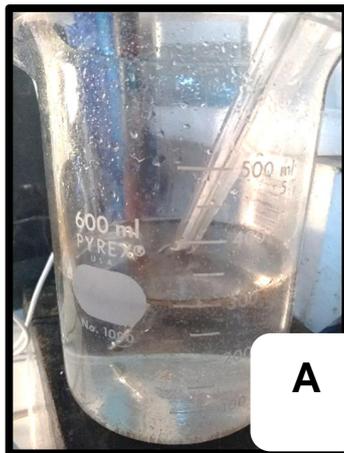
**Figura 14:** Procedimiento de solubilidad. A) Pesado de la muestra concentrada, B) Solventes a utilizar, C) Agitador manual y/o mecánico.



**Figura 15 :** Procedimiento de la marcha fitoquímica, A) Disolución de la muestra en un agitador mecánico , B) 1mL del filtrado concentrado en tubos de ensayo.

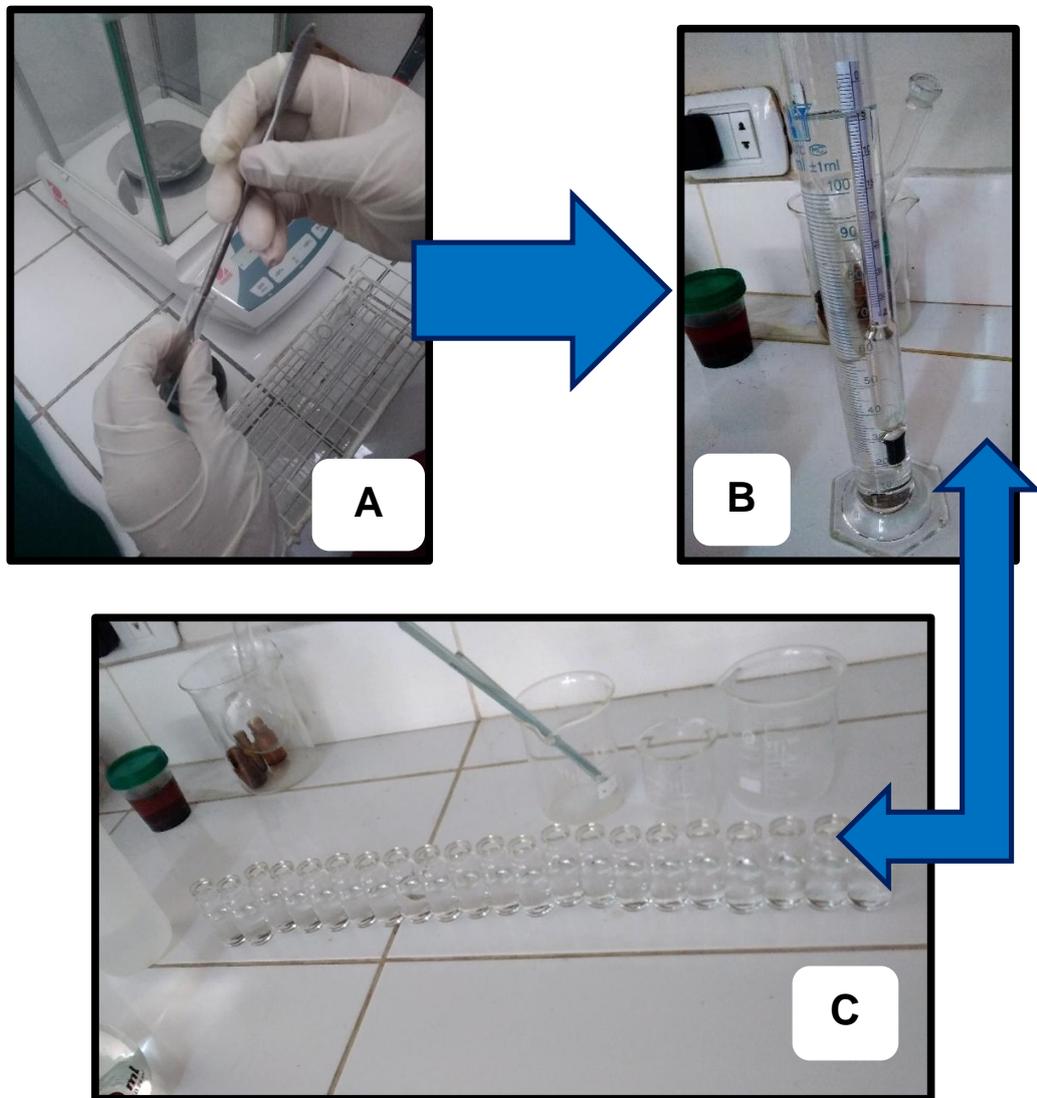


**Figura 16:** Preparación del agua de mar artificial usada en la eclosión y cultivo de los quistes. A) Termómetro, B) Lámpara Domestica, C) Diseño completo del dispositivo para eclosión y cultivo de los quistes de *Artemia Salina*.



**Figura 17:** A & B) Eclosión y cultivo en *Artemia salina*

}



**Figura 18:** Procedimiento de la Actividad Citotóxica. A) Pesar la muestra concentrada, B) Disolución de la muestra con DMSO y solución salina, C) Sembrado de la artemias

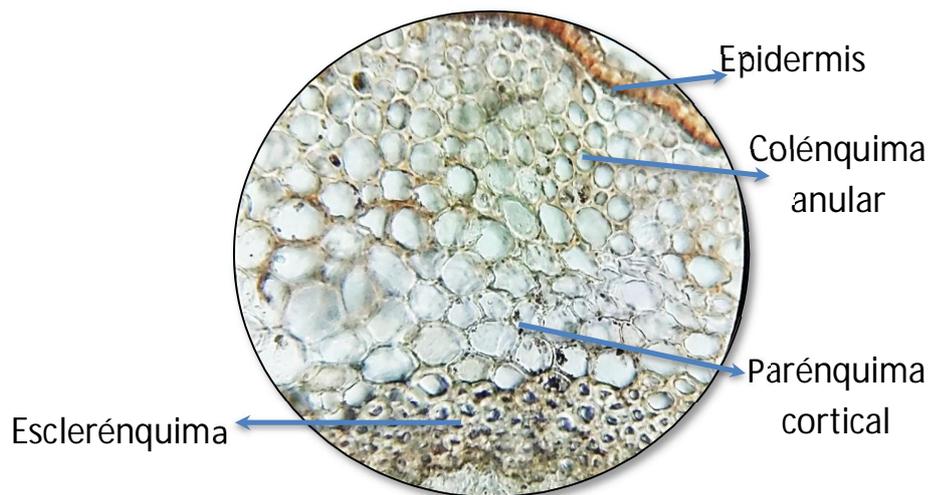
## ANEXO G: AGREGADOS IMPORTANTES AL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Estudio Botánico de *Buddleja coriacea* J.Remy "QUISHUAR" : En los estudios histológicos de la planta fresca de *Buddleja coriacea* J.Remy, se realizó los cortes tanto del tallo como en la hoja y la descripción detallada por microscopia de luz:

**Estructura interna del Tallo:** La estructura caulinar presenta las siguientes partes diferenciadas a través de un corte transversal del tallo:

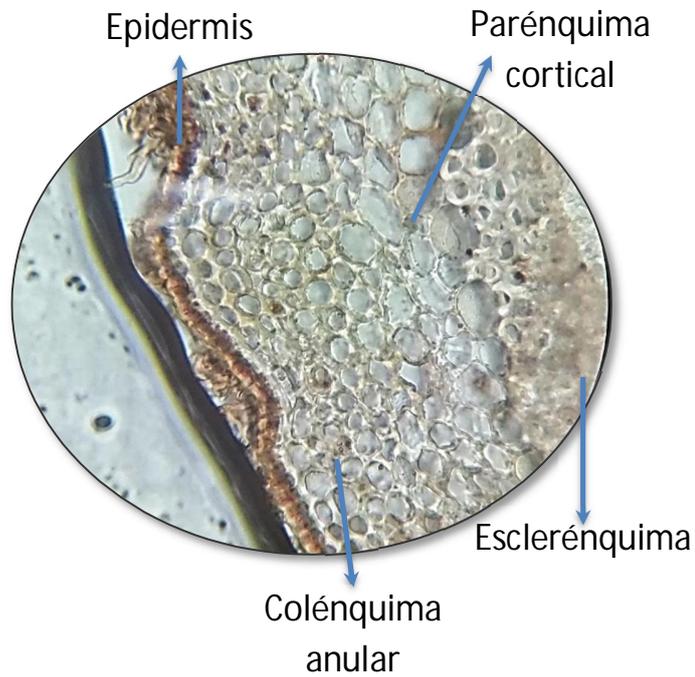
**Epidermis:** Es uniestratificada de tamaño corto y está compuesta por una sola capa de células, de forma redondeada, muy apretadas entre sí, de paredes delgadas, normalmente sin cutícula. Las células no tienen citoplasma denso y sin vacuolas.

(Figura 19)



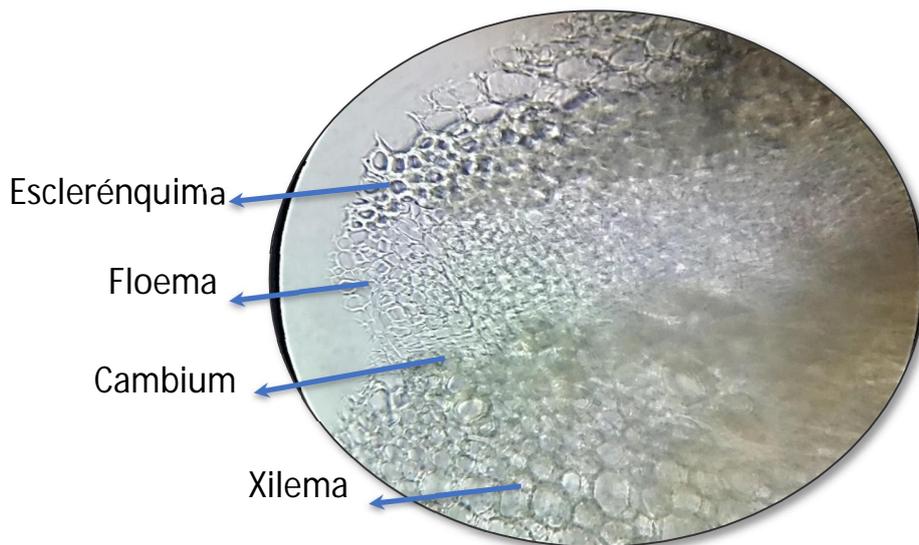
**Figura 19.** Epidermis del tallo visualizado en un Corte transversal (40X)

**Zona cortical:** Formada por un parénquima cortical, constituido por 5 a 6 hileras de células grandes de paredes delgadas. Colénquima anular disperso debajo de la epidermis (**Figura 19**). Bandas discontinuas de fibras de esclerénquima y presencia de idioblastos de arenilla cristalífera (**Figura 20 & 30**)

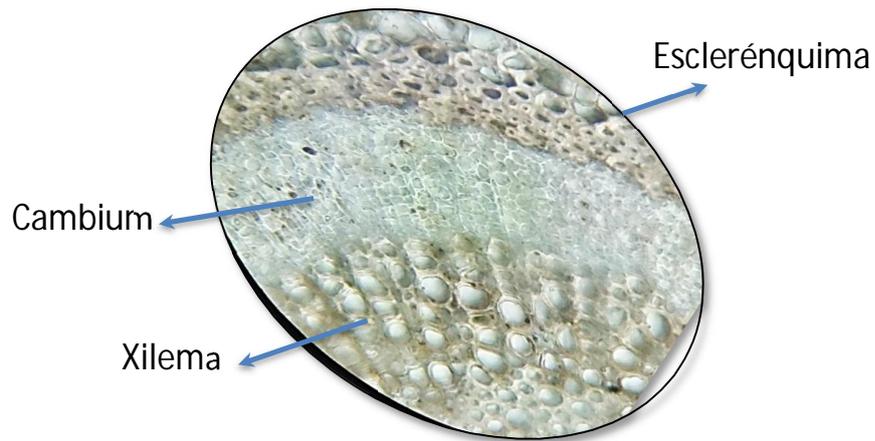


**Figura.20:** Zona cortical del tallo visualizado en un corte transversal (40X)

Tallo en sección transversal tiene forma rectangular que presenta un grupo de células esclerenquimáticas seguido del parénquima en empalizada, en la zona de conducción, se encuentra el floema , el cambium y el xilema. **(Figura 20 & 21)**



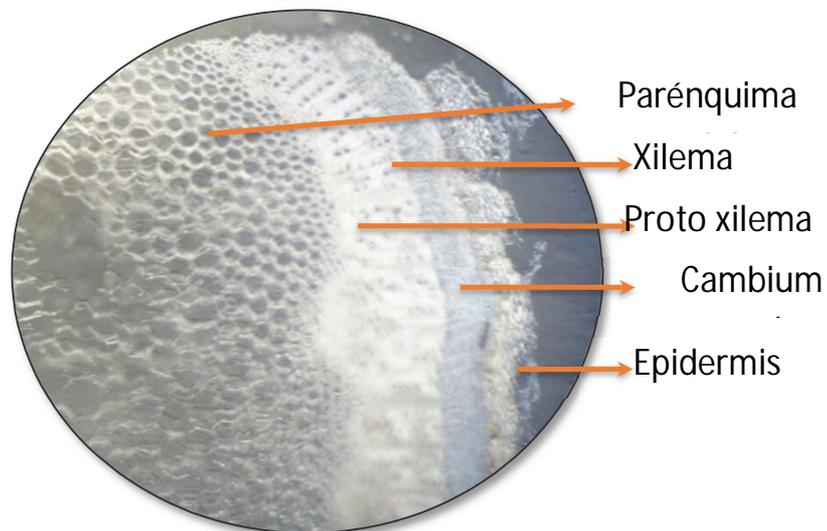
**Figura 20**



**Figura 21**

**Figura 20 y 21:** Corte transversal del tallo con presencia de células esclerénquimas, floema, cambium, xilema ( 40X )

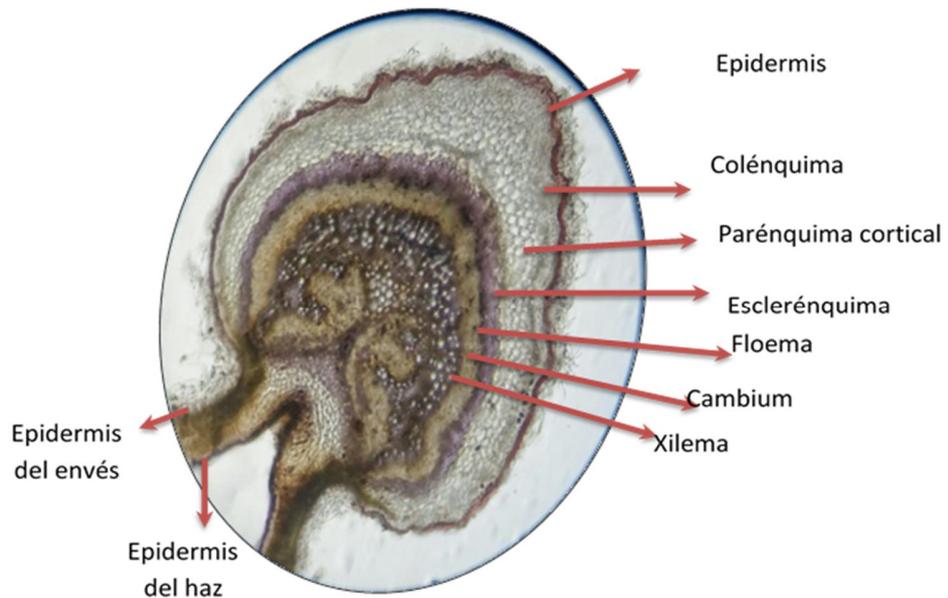
**Sistema vascular:** con presencia de floema y xilema. Las fibras de esclerénquima adyacente al floema. Xilema primaria desarrollado, con presencia de radios medulares uniseriados, que alcanzan la zona medular. En sección longitudinal el xilema presenta vasos espiralados, helicoidales y reticulados. **(Figura 21 & 22)**



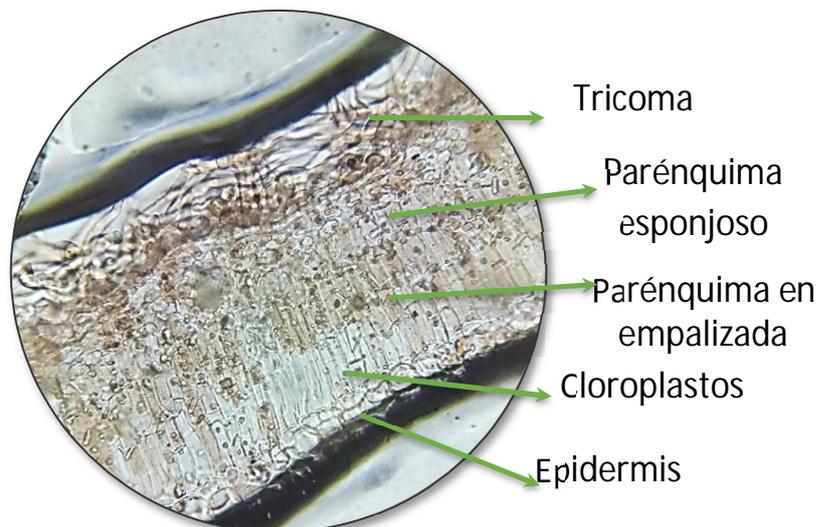
**Figura 22:** Sistema Vascular del tallo visualizado en un corte transversal (40X)

### Estructura interna de la Hojas:

A través de un corte transversal de la hoja se reconoció la epidermis adaxial (haz) y abaxial (envés). La hoja está compuesta por una capa de parénquima. En hojas adultas se observa una capa delgada colenquimática de la epidermis abaxial (**Figura 23**). Presenta abundantes tricomas no ramificado (**Figura 24**)

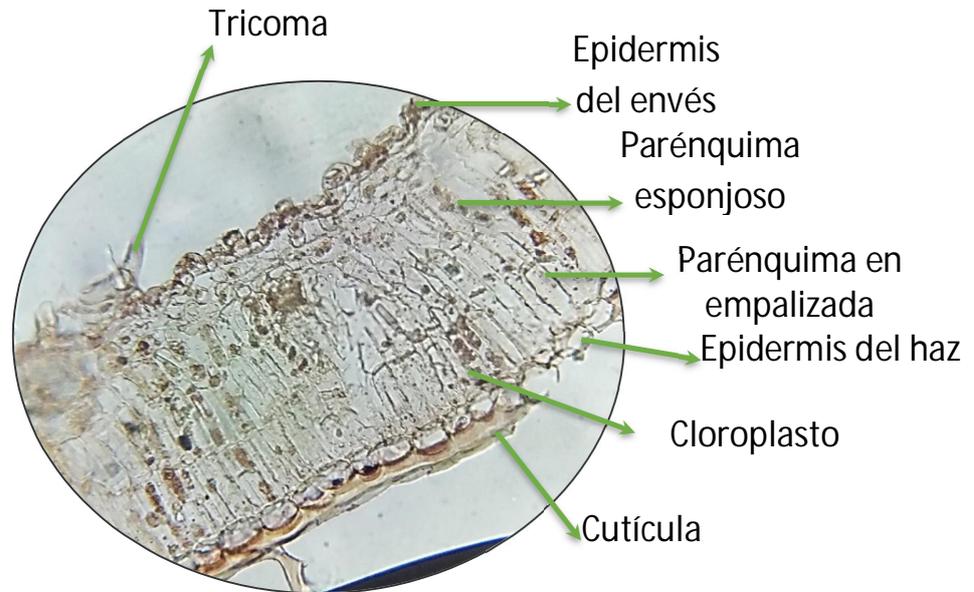


**Figura 23:** Corte transversal de la hoja a (10X) con reactivo de Safranina

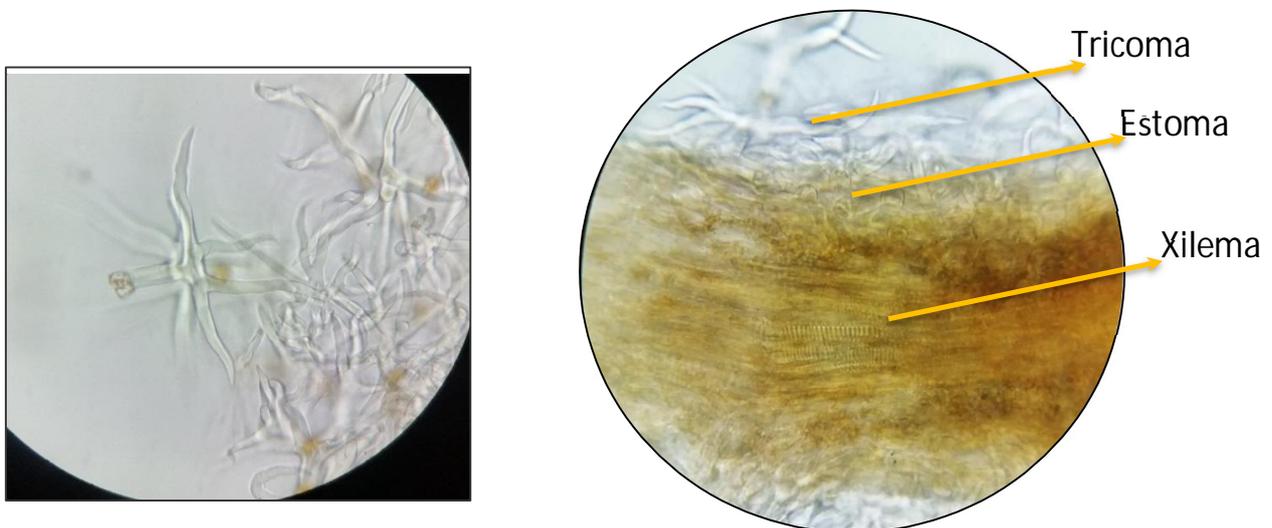


**Figura 24.** Presenta abundantes tricomas no ramificados y la hoja está compuesta por parénquima en empalizada y una capa delgada de parénquima esponjoso.

La hoja de Quishuar en corte transversal muestra células típicas adaxiales (Haz) y abaxiales (Envés) de formas rectangulares; en el mesófilo a su vez se observa una capa de células de parénquima empalizada y de 2 a 4 capas de parénquima esponjoso (Figura 25)

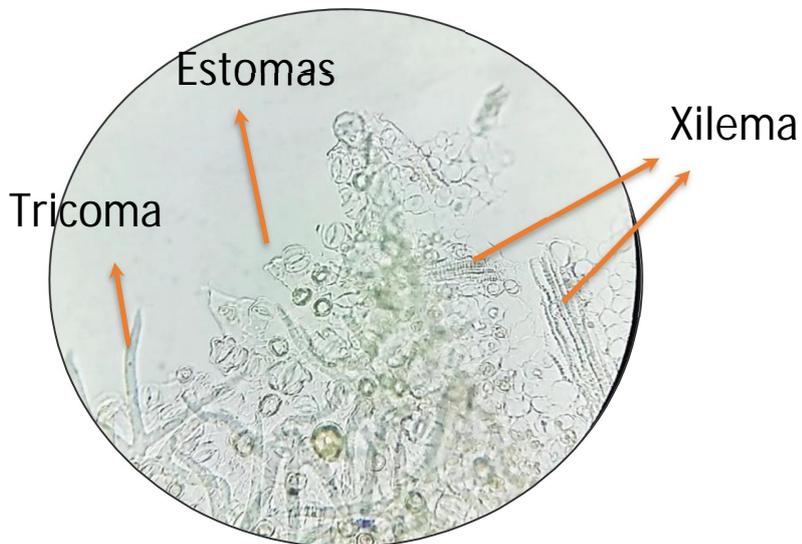


**Figura 25:** Corte transversal de la Hoja (10X)

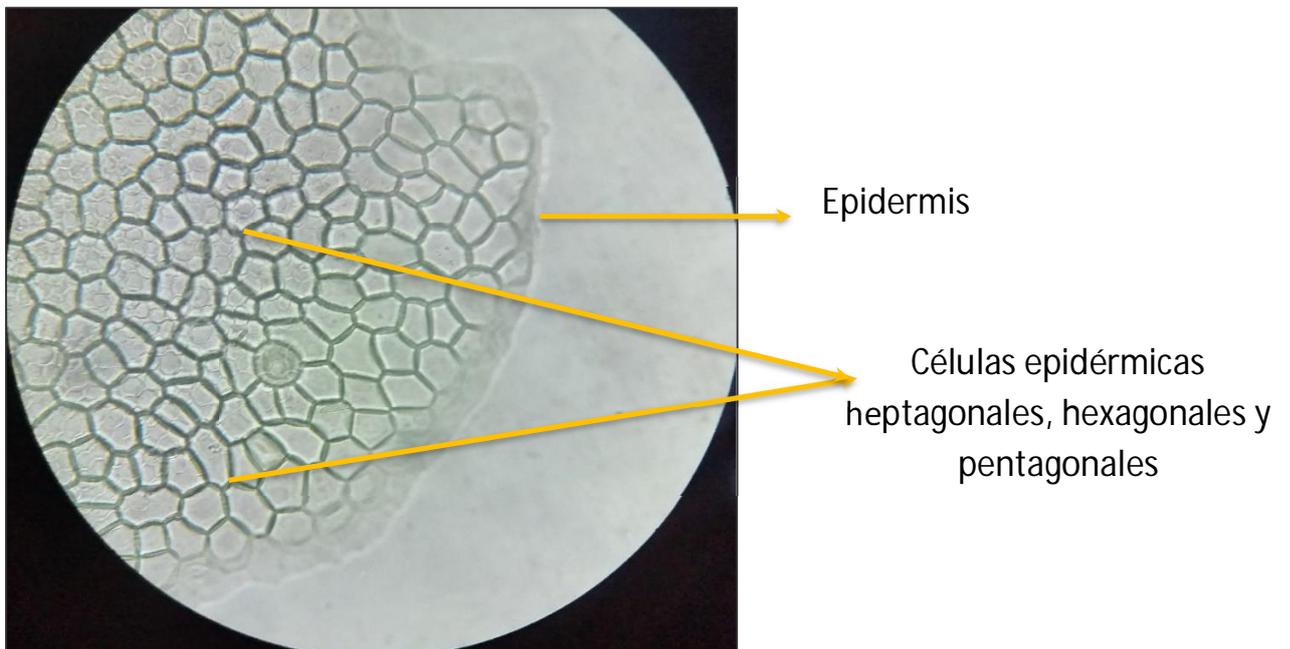


**Figura 26.** Corte Transversal (Fresco) De Hoja 40x

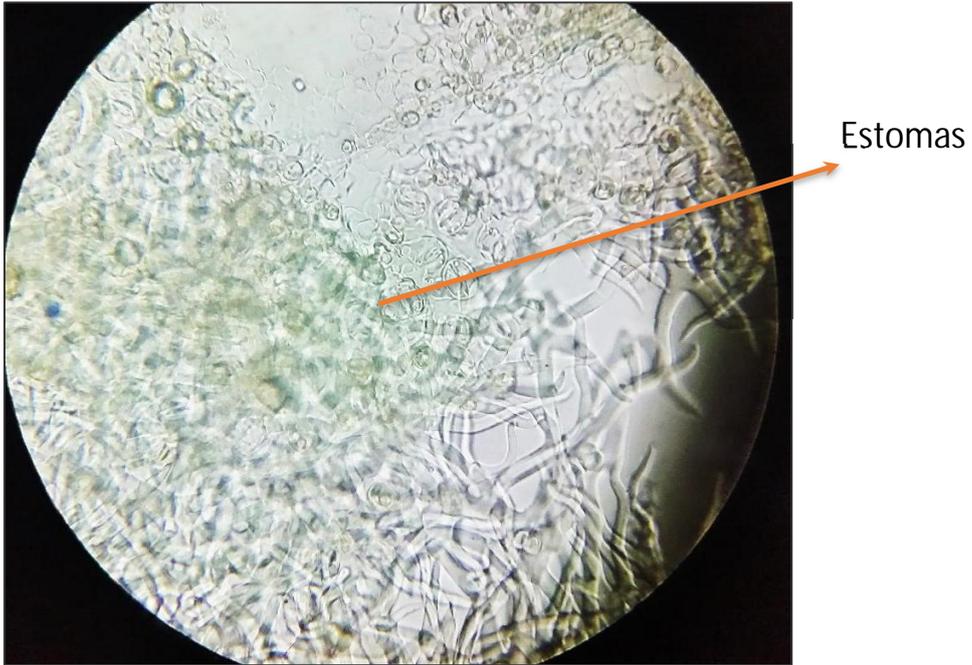
**Figura 27:** Corte Paradermal (Envés) De hoja 40 X



**Corte Paradermal del Haz y Envés De Hoja (Figura 28 y 29)**



**Figura 28:** Corte Paradermal Del Haz De Hoja (40X) Fresco, se visualiza la epidermis y celular epidérmicas de forma heptagonales , hexagonales y pentagonales



**Figura 29:** Corte Paradermal Del Envés De Hoja (40x) Fresco, donde se visualiza los estomas.