

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua

UNAN-León



Facultad de Ciencias Químicas

Carrera de Farmacia

Trabajo Monográfico para optar al título Químico- Farmacéutico.

Tema: Determinación de actividad antioxidante en diez especies vegetales recolectadas en la zona Nor-central de Nicaragua mediante el ensayo DPPH
Agosto-Noviembre 2018

Integrantes:

Br. Iris Leyla Oporta.
Br. Yader José Pérez Bucardo.

Tutor:

MSc. Fernando Baca Escoto.

León, marzo del 2019

“Ala libertad por la Universidad.”

Dedicatoria.

Primeramente a Dios nuestro Señor y creador, por darme la vida y sabiduría, por permitirme llegar hasta este momento y alcanzar una meta más, porque a pesar de las pruebas y obstáculos en el camino me ha enseñado de perseverancia y constancia siempre con fe y confianza en su bondad y misericordia infinita.

A mi madre, Iris Oporta Sequeira por darme siempre lo mejor que ha podido, por estar incondicionalmente, aun cuando no lo merecía, por acompañarme siempre en el camino de mi formación y crecimiento tanto profesional como espiritual, esto es más suyo que mío, gracias... A mis hermanos que de una u otra manera han sido apoyo constante a lo largo de nuestras vidas.

A los dos pilares de mi vida que hoy son las estrellas más bonitas en el cielo, quienes me formaron y dejaron los mejores recuerdos de amor y dedicación en mi memoria, hoy sé que en donde están saben que su trabajo y tiempo ha rendido los frutos que esperaban.

Br. Iris Leyla Oporta.

Dedicatoria.

Primeramente a Dios nuestro Señor y creador, por darme la vida y sabiduría, por permitirme llegar hasta este momento y alcanzar una meta más.

A mi madre, Ismelda Pérez Bucardo por darme siempre lo mejor que ha podido, por acompañarme siempre en el camino de mi formación y crecimiento.

A mi hermana Zulema Martínez Pérez que de una u otra manera han sido apoyo constante

Br. Yader José Pérez.

Agradecimientos.

Agradecemos a Dios nuestro Señor por permitirnos llegar hasta este momento de nuestras vidas profesionales, a Nuestras Madres gracias a quienes con sus constantes sacrificios nos impulsaron siempre, a nuestros maestros por transmitirnos de la mejor manera el pan del saber, a nuestro tutor Mcs. Fernando Baca y finalmente a cada una de las personas que en algún momento nos sirvieron de apoyo para poder culminar este trabajo monográfico.

Índice

Introducción	1
Planteamiento del problema	3
Objetivos	4
Marco teórico	5
Hipótesis	27
Materiales y métodos.	28
Resultados	35
Análisis de resultados	39
Conclusión	40
Recomendaciones	41
Anexos.	42
Bibliografía	44



Introducción

La utilización de plantas con fines medicinales es una actividad que ha trascendido como parte de la historia cultural de los pueblos; el hombre desde la antigüedad ha buscado en las plantas la curación para sus diversas enfermedades. Las ha utilizado para tratar padecimientos, algunos de estos son provocados por sustancias llamadas radicales libres que se forman en el organismo en condiciones normales. Esto puede originar cáncer, aterosclerosis y enfermedad de arteria coronaria, y enfermedades auto inmunitarias. En los seres vivos existen sistemas de defensa antioxidante que tienen la propiedad de impedir la acción nociva de los radicales libres, los factores que protegen contra daño por radical de oxígeno se conocen como antioxidantes. El manejo de sustancias químicas derivadas de vegetales brinda la oportunidad de encontrar principios activos, que son una fuente de materia prima natural con uso farmacológico. El estudio químico y biológico de plantas etnomedicinales proporciona información valiosa sobre actividades biológicas de interés en muchas regiones y países, además de propiciar la búsqueda de fitofármacos para que la población disponga de medicamentos rigurosamente estudiados; con el fin de tener más información de las plantas y alimentos se han descrito diversas técnicas para evaluar la capacidad antioxidante de estos mismos, pero aquella que ha recibido una preferencial atención es la técnica que utiliza el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo conocido por las siglas DPPH. (Emilio Guija, 2015).

En el 2015 un estudio con el tema: Evaluación de la Actividad Biológica de diez y siete especies vegetales recolectadas en la zona Norcentral de Nicaragua, Octubre 2014-Mayo 2015, realizado por los estudiantes de la Universidad Autónoma de Nicaragua-León; de acuerdo con los resultados de dicho estudio, se obtuvieron cinco extractos con actividad antioxidante promisorio, ya que las tres diluciones a evaluar presentaron una capacidad atrapadora de radicales libres mayor del 50%, a la vez que se obtuvieron tres extractos en donde dos de tres diluciones ensayadas presentaron una capacidad atrapadora de radicales libres muy buena, los otros nueve no presentaron actividad antioxidante. (Castellon S, 2015).



En Nicaragua el uso de plantas medicinales es una práctica muy común ya que constituye los diferentes elementos fitoterapéuticos disponibles a nuestro alcance para subsanar enfermedades comunes como no comunes; se ha encontrado plantas que poseen un amplio campo de propiedades curativas por lo que permite descubrir nuevas drogas con propiedades medicinales. (Pallow. M, 1999).

Debido a que los medicamentos sintéticos producen muchos efectos secundarios que hace que se incrementen los riesgos de salud; y ya que en el país existen muchas plantas con propiedades medicinales que aún no han sido estudiadas, se extiende la posibilidad de futuras investigaciones de estudios de plantas con compuestos que posean propiedades medicinales marcadas, que permitan implementar cada vez más nuevos tratamientos de origen natural; es por ello que el presente trabajo pretende determinar actividad antioxidante de 10 especies vegetales recolectadas de la zona nor-central de Nicaragua, como una opción natural al tratamiento de diversas enfermedades como diabetes mellitus, cataratas, cáncer, entre otras, incluso esto podría dar pautas para posibles investigaciones futuras ya sea dentro o fuera de la universidad.



Planteamiento del problema

Nicaragua es un país rico en flora y esto abre la posibilidad de encontrar principios activos de origen natural, es por ello que deben realizarse diferentes tipos de estudios para evaluar las propiedades que contienen las especies vegetales existentes en el país, sin embargo el estudio de esta área ha sido limitado aun siendo de gran importancia para el desarrollo de nuevas opciones para tratamientos de diversas afectaciones, así como para el desarrollo científico del país, es por ello que en la UNAN-León se han realizado una serie de investigaciones con el fin de determinar si especies recolectadas en la zona norte del país tienen actividad antioxidante, por ende en este estudio se pretende determinar:

¿Qué especies vegetales recolectadas en la zona nor-central de Nicaragua contienen actividad antioxidante?



Objetivos

Objetivo general

- ✓ Determinar actividad antioxidante en diez especies vegetales recolectadas en la zona nor-central de Nicaragua mediante el ensayo DPPH Agosto-Noviembre 2018

Objetivos específicos

- ✓ Evaluar la actividad antioxidante de las diez especies vegetales en estudio.
- ✓ Determinar la capacidad atrapadora de radicales libre que tienen los extractos etanólicos de las diez especies en estudio.



Marco teórico

Región Norcentral de Nicaragua

La Región Norcentral es, en términos generales, la más templada del país con temperaturas promedio anual menores a los 24 °C, con excepción de pequeños sectores de tierra caliente. La altura sobre el nivel del mar va de 100 a 2,107 m. Comprende parte de los Departamentos de Chinandega, León, Managua, Boaco, Chontales, y de la Costa Atlántica, y toda la extensión de cada uno de los Departamentos de Estelí, Madriz y Nueva Segovia. Esta Región Ecológica mide unos 21,125 km² de extensión. Se extiende desde la frontera con Honduras hasta la Sierra de Amerrisque, en el Departamento de Chontales, dándose en ella las mayores altitudes del país que se alternan con medianas áreas de colinas y planicies, lo cual da como resultado una gran diversidad en la vegetación y su composición florística. (Castellon S, 2015).

Relieve y clima de la región Norcentral.

El relieve de esta región comprende una amplia meseta de forma triangular, con base en el Río Coco y cuyo vértice termina en la Sierra de Amerrisque, que declina desde los 600m al norte a los 200m al sur. En ella se extiende una amplia faja de montañas altas, colinas escarpadas y planicies seccionadas. Abarca parte de las Cordilleras Dariense e Isabelia, las Montañas de Jalapa y Dipilto, las Mesas escalonadas, una pequeña extensión de las Montañas de Huapí y de la Serranía de Amerrisque. Al norte de esta región están las mayores elevaciones, disminuyendo a medida que se avanza hacia el Este y hacia el Sur. (Castellon S, 2015)

El relieve es muy abrupto, especialmente en las cordilleras y en los cañones que separan las mesetas, suavizándose hacia el Atlántico. Entre el relieve accidentado existen numerosas y pequeñas áreas planas y llanos internos. Algunos valles se han ensanchado a partir de los cursos medios de los ríos. La forma que presentan las tierras actualmente es el producto de la erosión provocada por la acción continuada de los agentes atmosféricos sobre los materiales geológicos resultantes de un intenso vulcanismo terciario aunque ya no existen evidencias eruptivas. Los suelos se caracterizan por ser de naturaleza pedregosa (litosoles), regosoles, y suelos podsólicos rojo-amarillos. (Castellon S, 2015)



El clima de la región es muy variado debido a la orientación y proyección orográfica. La pluviosidad aumenta de occidente a oriente, así tenemos un promedio de 900 mm anuales en Estelí y 2,000 mm promedio anual al noreste de Jinotega. Atendiendo a la temperatura, en función de la altitud, consideramos tres zonas principales: Zonas Calientes (50 a 500 msnm), Zonas Templadas (501 a 1,000 msnm), Zonas Frías (1,001 a 2,107 msnm). La temperatura varía de una manera notable desde las partes más bajas, en llanos, planicies y valles, con un promedio anual mayor de 26°C, hasta las cumbres más elevadas, con un promedio anual de 18°C. (Castellon S, 2015)

Vegetación de la región Norcentral

La vegetación característica es de tipo tropical en áreas con temperaturas mayores a los 24°C, y vegetación sub-tropical en áreas con temperaturas menores a los 24°C. La “vegetación subtropical seca” es matorralosa, debido a la intervención humana, predominando árboles espinosos y cactáceos. (Castellon S, 2015)

La “vegetación subtropical húmeda” es más boscosa; abundan los musgos, helechos, orquídeas y bromeliáceas. En esta vegetación contrastan los bosques de pinos que se desarrollan sobre los terrenos arenosos y ácidos a partir de los 800 msnm normalmente. También se desarrollan las nebliselvas en las cumbres más elevadas donde la neblina envuelve los bosques, los árboles son de menor tamaño que en la pluvioselva, y más ramificados, hay abundancia de epífitas y helechos. (Castellon S, 2015)

Desde el punto de vista de la fisionomía de la vegetación y de su composición florística, la Región Norcentral comprende diferentes Formaciones Vegetales (Formaciones Forestales): Bosques caducifolios, nebliselvas de altura, etc., y una gran diversidad de especies vegetales cuya presencia en cada localidad responde a los factores ecológicos de clima, geología, topografía, suelo y actividades humanas. (Castellon S, 2015)



Flora de la región Norcentral

La Flora de la Región Norcentral, tiene prácticamente en su seno la mayoría de las especies vegetales arborescentes y herbáceas de Nicaragua. En las partes bajas, secas, semihúmedas y húmedas, al oeste de esta Región están representadas la mayoría de las especies de plantas de la Región Ecológica I (del Pacífico). Estas especies están asociadas con especies propias de la Región Ecológica II. Gran número de especies de plantas de la Flora del Pacífico tienen un límite de avance en la Región Norcentral. Un considerable número de especies vegetales de la flora del litoral Atlántico se han desplazado hasta llegar a la Región Ecológica I pasando por ambientes naturales de la Región Norcentral. (Castellon S, 2015)

La flora de la Región Norcentral es muy rica en especies de plantas que vienen del Norte. Algunas de ellas como el Nogal, *Juglans olanchanum*; el Nancite macho, *Arbutus xalapensis*, y el Liquidámbar, *Liquidambar styraciflua*, son árboles que prefieren las partes más altas, frías y húmedas. (Castellon S, 2015)

Los radicales libres son moléculas o fragmentos de moléculas caracterizadas por tener uno o más electrones desapareados en su orbital externa, condición que los torna altamente reactivos. En el ser humano se generan radicales libres en la cadena respiratoria mitocondrial, cuando reacciona el peróxido de hidrógeno con el ion ferroso, por acción catalítica de la ciclooxygenasa, la reacción de vitamina C con el ion ferroso, por la acción de la NADPH reductasa, etc. (David A. Bender, 2009).

Dan por resultado daño de ácidos nucleicos, proteínas y lípidos en membranas celulares y lipoproteínas plasmáticas. Los radicales más perjudiciales en sistemas biológicos son los radicales de oxígeno (a veces denominados especies de oxígeno reactivas), en especial superóxido, $\bullet\text{O}_2^-$, hidroxilo, $\bullet\text{OH}$, y perhidroxilo, $\bullet\text{O}_2\text{H}$. El daño de tejido causado por radicales de oxígeno suele llamarse daño oxidativo, y los factores que protegen contra daño por radical de oxígeno se conocen como antioxidantes. Los radicales de oxígeno se forman como resultado de exposición a radiación ionizante, reacciones no enzimáticas de iones metálicos de transición, la explosión respiratoria de macrófagos activados, y la oxidación normal de coenzimas flavina reducidas. (David A. Bender, 2009)



Hay múltiples fuentes de radicales de oxígeno en el cuerpo. Las radiaciones ionizantes (rayos X y UV) pueden lizar el agua, lo que lleva a la formación de radicales hidroxilo. Los iones metálicos de transición, entre ellos Cu^+ , CO_2^+ , Ni_2^+ y Fe_2^+ , pueden reaccionar de manera no enzimática con oxígeno o peróxido de hidrógeno, lo que de nuevo conduce a la formación de radicales hidroxilo. El óxido nítrico (el factor de relajación derivado del endotelio) en sí es un radical y, lo que es más importante, puede reaccionar con el superóxido para dar peroxinitrito, que se des- integra para formar radicales hidroxilo. (David A. Bender, 2009).

En los seres vivos existen sistemas de defensa antioxidante que tienen la propiedad de impedir la acción nociva de los radicales libres, habiéndose identificado compuestos con propiedades antioxidantes de naturaleza enzimática como la catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, etc., así como, sustancias no enzimáticas: ascorbato, ferritina, ceruloplasmina, polifenoles, antocianinas. En estudios epidemiológicos y de laboratorio se han identificado varios nutrientes antioxidantes protectores: selenio, vitaminas C y E, β -caroteno, y varios compuestos polifenólicos derivados de alimentos de origen vegetal. Muchas personas toman complementos de uno o más nutrientes antioxidantes. Sin embargo, estudios de intervención muestran poco beneficio de los complementos de antioxidantes excepto entre personas que al principio tenían deficiencia, y muchos estudios sobre el β -caroteno y la vitamina E han mostrado aumento de la mortalidad entre quienes recibieron los complementos. (David A. Bender, 2009).

Cuando la defensa antioxidante es insuficiente para proteger al organismo del efecto dañino de los radicales libres puede conducirlo al estrés oxidativo, condición que está estrechamente vinculado a una gran diversidad de patologías como la psoriasis, cáncer, diabetes mellitus, aterosclerosis, cataratas, hipertensión arterial. (Emilio Guija, 2015).

Existe un gran número de estudios epidemiológicos que vinculan la ingesta de una dieta rica en frutas y verduras con un disminuido riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, cáncer, aterosclerosis, artritis, etc., y ello debido a que dichos alimentos tienen un elevado contenido de polifenoles, flavonoides, antocianinas, vitamina C, vitamina E, β -caroteno y licopeno. (Emilio Guija, 2015).



Determinación de la Actividad Antioxidante

Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante, ya sea in vitro o in vivo:

Una de las estrategias más aplicadas en las medidas in vitro de la capacidad antioxidante total de un compuesto, mezcla o alimento, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical; la pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración. No obstante, las determinaciones de la capacidad antioxidante realizadas in vitro nos dan tan sólo una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas in vivo. La capacidad antioxidante de una mezcla no viene dada solo por la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes; también depende del microambiente en que se encuentra el compuesto. Los compuestos interactúan entre sí pudiendo producirse efectos sinérgicos o inhibitorios. Por otra parte, es necesario considerar que los ensayos in vivo pueden presentar algunos inconvenientes, como la adaptabilidad en respuesta al aumento del estrés oxidativo. Este radical libre es susceptible de reaccionar con compuestos antioxidantes a través de un proceso caracterizado por la cesión de un átomo de hidrógeno proporcionado por el agente antioxidante. (Emilio Guija, 2015).

Alternativamente, diversos compuestos cromógenos (ABTS, DPPH, DMPD, DMPO y FRAP) son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos para captar los radicales libres generados, operando así en contra los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación, que implican a especies reactivas de oxígeno (EROS). Los métodos más aplicados son ABTS y DPPH. Ambos presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias. El DPPH es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato potasio, ABAP), enzimática (peroxidase, mioglobulina), o también eletroquímica. Con el ABTS se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico, y el DMPD solo en medio acuoso. El radical ABTS^{•+} tiene, además, la ventaja de que su espectro presenta máximos de absorbancia a 414, 654, 754 y 815 nm en medio alcohólico, mientras que el DPPH presenta un pico de absorbancia a 515 nm y el DMPD a 505 nm. (E. Marta KUSKOSKI, 2005).



a) Método ABTS:

Según la metodología desarrollada por RE et al. y descrita por KUSKOSKI et al. El radical $ABTS^{\bullet+}$ se obtiene tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,45 mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}C$) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical $ABTS^{\bullet+}$ se diluye con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 ($\pm 0,1$) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción). Las muestras filtradas se diluyen con etanol hasta que se produce una inhibición del 20 al 80%, en comparación con la absorbancia del blanco, tras añadir 20 μL de la muestra. A 980 μL de dilución del radical $ABTS^{\bullet+}$ así generado se le determina la A_{754} a $30^{\circ}C$, se añade 20 μL de la muestra y se mide de nuevo la A_{754} pasado 1 minuto. (E. Marta KUSKOSKI, 2005)

b) Método DPPH:

Este método, desarrollado por BRAND-WILLAMS et al., se basa en la reducción de la absorbancia medida a 517 nm del radical DPPH $\bullet$, para determinar la Actividad inhibidora del radical libre 1,1-difenil-2-picril hidracilo (DPPH $\bullet$). Este radical (DPPH $\bullet$) tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por reacción con una sustancia antioxidante; la absorbancia es medida espectrofotométricamente a 517 nm. La diferencia de absorbancias, permite obtener el porcentaje de captación de radicales libres. por antioxidantes. (E. Marta KUSKOSKI, 2005)

c) Método DMPD:

Se determina la actividad antioxidante aplicando el método propuesto por FOGLIANO et al. Este se basa en añadir 1 mL de la disolución de DMPD 100 mM a 100 mL de disolución tamponada con ácido acético/ acetato de sodio 0,1 M (pH 5,25). Tras la adición de 0,2 mL de una disolución de cloruro férrico 0,05 M (concentración final de 0,1 mM) se forman radicales cationes coloreados (DMPD $\bullet$). Un mililitro de esta disolución se traslada a una cubeta midiéndose su absorbancia, comprendida entre 0,90 ($\pm 0,1$), a 506 nm. Se añade 50 μL de una disolución patrón de antioxidante o de muestras diluidas y transcurridos diez minutos (a $25^{\circ}C$) se hace otra medida de absorbancia a 506 nm. La disolución tamponada de acetato se utiliza como blanco de referencia. (E. Marta KUSKOSKI, 2005).



Procesos de Extracción

Los procesos de extracción más simples empleados se dividen de acuerdo al disolvente utilizado en:

- ✓ Extracción con agua: infusión, destilación por arrastre con vapor de agua y decocción.
- ✓ Extracción con solventes orgánicos: maceración, lixiviación o percolación, extracción Soxhlet, digestión y por fluido supercrítico.
- ✓ La selección de uno de ellos dependerá de las necesidades y facilidades tanto técnicas como económicas con que se cuenten. (Gonzales, 2004).

Variables de extracción

La velocidad y la eficiencia de la extracción se ve afectada por diversos factores, principalmente por aquellos que tiene relación directa con la solubilidad de los componentes que se desean extraer. Los factores son los siguientes: temperatura, concentración del solvente, tamaño de las partículas, porosidad y agitación.

-Extracción Soxhlet:

Método en caliente, que se desarrolla empleando solventes con puntos de ebullición bajo, para evitar la degradación de la muestra. Conveniente para obtener los extractos crudos de las plantas. (Gonzales, 2004)

-Digestión:

En este proceso se agrega solvente caliente (con temperaturas no mayores a los 50 °C) al material vegetal molido colocado en un material de vidrio de boca pequeña, la temperatura del solvente permite una mayor extracción de compuestos ya que la solubilidad de la mayoría de las especies aumenta con la temperatura. (Gonzales, 2004)

-Infusión y Decocción:

Tanto la infusión como la decocción son procesos simples de extracción con agua, en el primer caso se agrega agua caliente o fría al material molido y luego se filtra; en el segundo el material se hierve por espacio de 15 minutos con el agua. (Gonzales, 2004)



-Extracción con fluidos supercrítico:

Este proceso es una operación que aprovecha el poder disolvente de fluidos a temperaturas y presiones por encima de sus valores críticos. (Gonzales, 2004)

-Maceración:

Se entiende por maceración al contacto prolongado durante cierto tiempo de la droga con el menstruo constituyendo un conjunto homogéneamente mezclado en el cual el menstruo actúa simultáneamente sobre todas las proporciones de la droga, circulando a través en todas las direcciones y sentidos y disolviendo sus principios activos hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular. (Ana Carrion, 2010)

La maceración es un proceso de extracción solido-liquido, donde la materia prima posee una serie de compuestos solubles en el líquido de extracción que son los que se pretende extraer. El proceso de maceración genera dos productos que pueden ser empleados dependiendo de las necesidades de uso, el sólido ausente de esencias o el propio extracto. Existen dos métodos de maceración dependiendo de la temperatura: en caliente y en frío. (Ana Carrion, 2010)

-Maceración en frío:

Es una extracción que se realiza a temperatura ambiente. Consiste en remojar el material vegetal, debidamente fragmentado en un solvente (agua o etanol, se prefiere el etanol puesto que a largos tiempos de extracción el agua puede propiciar la fermentación o la formación de mohos) hasta que éste penetre y disuelva las porciones solubles. Se puede utilizar cualquier recipiente con tapa que no sea atacado con el disolvente; en éste se colocan el material vegetal con el disolvente y tapado se deja en reposo por un período de 2 a 14 días con agitación esporádica. Luego se filtra el líquido, se exprime el residuo, se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y se obtiene el extracto. (Gonzales, 2004).

-Maceración en caliente:

El proceso consiste en el contacto entre las fases, el producto a macerar y el solvente. Con la diferencia en la variación de la temperatura, en este caso pueden variar las condiciones de la maceración. La desventaja de la maceración en calor es que no logra extraer totalmente pura la



esencia del producto, ya que regularmente destruye algunas propiedades, es decir, muchas veces se trata de compuestos termolábiles que se ven afectados por la temperatura. (Gonzales, 2004).

-Percolación:

También conocido como lixiviación, es uno de los procesos más difundidos pues se puede realizar con disolventes orgánicos en frío para preservar los compuestos termolábiles que pudiera contener pasar un disolvente adecuado a través del mismo. No es apropiado para resinas o materiales que se hinchen dado que el disolvente no percolará. Se requiere agregar solvente constantemente. (Gonzales, 2004).

Selección del Solvente

La elección del disolvente depende de parámetros técnicos y económicos:

Selectividad, estabilidad, inercia química, temperatura de ebullición no demasiado elevada para permitir su eliminación total, no demasiado baja para evitar las pérdidas; seguridad de manipulación (si es posible no tóxico ni inflamable). (Gonzales, 2004)

Los disolventes más utilizados son los hidrocarburos alifáticos: éter de petróleo, hexano, y también propano o butano líquido (a presión). Aunque el benceno es un buen disolvente, su toxicidad limita cada vez más su utilización. Igualmente, se ha recurrido a disolventes halogenados y al etanol. También se utilizan otros solventes como soluciones ácidas o alcalinas para la extracción selectiva de algunos compuestos, sin embargo se debe tener precaución con el pH de las mezclas para prevenir hidrólisis o reordenamiento de compuestos sensibles. (Gonzales, 2004).

Extractos etanólicos

Extracto con olor característico, obtenido a partir de materia prima desecada de origen vegetal, por maceración o percolación en contacto con etanol, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico. Estos procesos pueden ser sometidos a determinadas operaciones para eliminar algunos de sus componentes y así mejorar notablemente la calidad del producto deseado. (Gonzales, 2004)



Generalidades de las especies vegetales en estudio.



Nombre científico: *Piper amalago* L.

Familia: *piperacea*

Nombre común: conocido en Brasil por los términos jaborandi-manso, jaborandi-falso y jaborandinhandi. (Dos santos V, 2015).

Recolección: Departamento de Matagalpa, municipio de Waslala, carretera entre Waslala y Siuna a 10 Km de Waslala.

Fig.1 *Piper amalago* L.

Descripción botánica:

Arbustos o sufrútices, 1–6 m de alto, esciófilos, profusamente ramificados; tallos verdes, entrenudos 3.5–5.5 (–8) cm de largo (ocasionalmente 10–12 cm en los ejes monopódicos), estriados, inconspicuamente pelúcido-punteados, puberulentos, glabrescentes. Perfiló 3–5 mm de largo, puberulento, caduco. Hojas uniformes en forma y tamaño en todos los ejes, simétricas, ampliamente ovadas o elíptico-ovadas, (6.5–) 7.5–12 (–13.5) cm de largo y (4–) 5.6–8 cm de ancho, ápice acuminado, base cuneada a redondeada, ocasionalmente cordada en plantas de elevaciones bajas, inconspicuamente pelúcido-punteadas, verde nítidas en la haz y verde pálidas en el envés, cartáceas, verde ocre y opacas cuando secas, cortamente pubescentes a lo largo de los nervios principales en ambas superficies, glabrescentes en la haz, palmatinervias con 5–7 nervios principales divergiendo de la base en ángulos de 45°, arqueados y ascendentes, anastomosados marginalmente, nervadura terciaria inconspicua, nervadura levemente elevada en ambas superficies; pecíolos 0.6–1.5 cm de largo, vaginados, con un desarrollo estipular restringido a la base del pecíolo en todos los nudos, 2 mm de largo, caduco. Inflorescencias erectas y verde pálidas o amarillentas en todos los estadios, pedúnculos (0.5–) 0.7–1.4 cm de largo, puberulentos, raquis 4.5–7 (–8) cm de largo, pubescente, brácteas florales cuculadas, 0.2 mm de ancho, fimbriadas, basalmente pubescentes, abaxialmente glabras, flores laxamente agrupadas en el raquis sin formar bandas alrededor de la espiga, sésiles; estambres 4–5, filamentos tan largos como las anteras, éstas con dehiscencia oblicua, conectivo discreto y eglandular; pistilo pirenoide con 3–4 estigmas sésiles. Frutos ovoides a cilíndricos, levemente sulcados, 1–1.2 mm de largo, apiculados, densamente papilados a puberulentos, negros cuando secos. (Tropicos., 2009)



Distribución: Común, en bosques húmedos y premontanos, en sitios parcialmente sombreados, zonas pacífica y nor-central, aparentemente ausente de la zona atlántica; 100–1600 m. (Tropicos., 2009).

Usos: información no disponible.

Actividades farmacológicas: Estudios farmacológicos han demostrado propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas, cicatrizantes, antileishmaniales. (Dos santos V, 2015).

Composición química: se ha sugerido que tiene propiedades antioxidantes ya que contiene vitexina y lupeol que se han aislado mediante análisis fitoquímico. (Dos santos V, 2015).



Nombre científico: *Celtis schippii* Standl.



Familia: *Cannabaceae*.

Nombre común: Es conocida como Cagalera, cagalera sin espinas, wikius

Recolección: Departamento de Matagalpa, municipio de Waslala, camino entre Waslala y comunidad el casquito.

Fig.2 *Celtis schippii*

Descripción botánica:

Arboles inermes, 620 m de alto. Hojas elípticas, 6.516 cm de largo y 39 cm de ancho, ápice largamente acuminado, base atenuada y ligeramente oblicua, enteras, delgadas, glabras en el haz y el envés. Inflorescencias fasciculadas o cimoso-comprimidas; flores estaminadas, sépalos 5, estambres 5; flores pistiladas mayormente solitarias, pediceladas, sépalos 5, persistentes, ovario sésil, 1-locular, ramas del estilo simples, lineares. Frutos elipsoides, 1.5 cm de largo, glabros, amarillos en la madurez. (Tropicos, Flora de Nicaragua, 2009).

Distribución: Poco común en bosques muy húmedos, zona atlántica; 0200 m;(probablemente durante más tiempo).Guatemala hasta Perú. (Tropicos, Flora de Nicaragua, 2009)

Usos:

Agroforestales: Datos ignotos

Ecológicos: Apoyo en la dieta de poblaciones de avifauna silvestres, estabilización de cauces fluviales, protección de mantos acuíferos y recuperación de áreas degradadas. (UICN, celtis schippii, 2015)

Industriales: La madera se usa para construcción de viviendas (pisos, vigas, paredes, etc.) y como combustible (leña). Los frutos se reportan comestibles para humanos, pero no se explotan comercialmente. (UICN, celtis schippii, 2015)

Actividades farmacológicas: información no disponible.

Composición química: Información no disponible.



Fig.3 *Geonoma congesta*

Nombre científico: *Geonoma congesta*

Familia: ARECACEAE

Nombre común: Caña de Danta (LS), Caña de Danta (CR)

Recolección: información no disponible.

Descripción botánica:

Palmas pequeñas; tallos agrupados, 1–5 m de alto y 1–2 cm de diámetro. Hojas (46–) 84–168 cm de largo, variadamente yugada y ocasionalmente con segmentos angostos 1–multinervios; segmentos apicales 20–50 cm de largo y 6–25 cm de ancho, los medios 23–53 cm de largo y (6–) 13–17 cm de ancho, los inferiores 20–60 cm de largo y 4.3–23 cm de ancho, nervios emergiendo en un ángulo de 20 y formando con el raquis un ángulo de 30–40, raquis 29–77 cm de largo; pecíolo 10–30 cm de largo. Inflorescencias generalmente muy por abajo de las hojas, 12–35 cm de largo, una vez ramificadas con 4–14 raquillas, hirtulo-pilosas, glabrescentes, anaranjadas en fruto, pedúnculo 6–11 cm de largo, brácteas primarias 2, fugaces, casi tan largas, mucho más largas o igualando al pedúnculo, insertadas a 0.4–2.5 cm de distancia en la base, profilo (2–) 12–16 cm de largo, bráctea peduncular completamente envuelta, 7–10.5 cm de largo, inconspicuamente amarillento-lepidota a glabrescente, raquis 1.6–9.8 cm de largo; raquillas 6–18 cm de largo y 4–7 mm de diámetro, con numerosos tricomas pálidos bifurcados o ramificados, glabrescentes, fóveas marcadamente bilabiadas, arregladas en espiral, más bien amontonadas, glabras por dentro, bráctea inferior retusa, partida en fruto, bráctea superior muy prominente, ciliada; flores pistiladas con tubo estaminodial muy conspicuo, truncado (o crenulado). Frutos frecuentemente agrupado-comprimidos, subglobosos a ovoide-obovoides o elipsoides, 10–12 (–15) mm de largo y 8–14 mm de diámetro, a menudo infestado con un hongo, exocarpo no reconocible, suberoso, negro-purpúreo cuando maduro. (tropico, 2016)

Distribución: Común en sotobosque de bosques muy húmedos siempre verdes, en suelos poco drenados, en vegetación secundaria y a lo largo de ríos, zonas atlántica y nor-central; (10–) 65–1200 m; durante todo el año; Honduras a Panamá. (tropico, 2016)

Usos: Sus semillas se usan para la producción de colorantes y sirven de alimento para varios animales silvestres. (Gomez L, 2013).

Actividades farmacológicas: información no disponible.



Fig.4 *Columnnea linearis oerst.*

Composición química: información no disponible.

Nombre científico: *Columnnea linearis oerst.*

Familia: *Gesneriaceae*

Nombre común: información no disponible.

Recolección: información no disponible.

Descripción botánica:

Subarbustos epífitos hasta 50 cm de alto, tallos algo escamosos. Hojas en pares subiguales, láminas lineares, 3.5–9.8 cm de largo y 0.3–1 cm de ancho, ápice acuminado, base atenuada, en la haz glabras, en el envés verdes o rojizas y aplicado-pilosas; pecíolos 2–10 mm de largo. Flores solitarias; lobos del cáliz lanceolados, ca 1 cm de largo, subenteros y verdes a rojos o morados; corola rosado-roja a rojo-anaranjada, blanco-seríceo en su parte externa, tubo zigomorfo, 3.5–4.5 cm de largo, los lobos superiores del limbo erectos, los laterales e inferiores reflexos; glándula del disco 1, trilobada; estambres y estilo exsertos, estigma estomatomorfo. Bayas globosas y blancas. (tropicos, 2009)

Distribución: Común en bosques siempre verdes y en laderas de caños en las zonas nor-central y atlántica; 0–1400 m; durante todo el año; Belice a Costa Rica. (tropicos, 2009)

Usos: información no disponible.

Actividades farmacológicas: información no disponible.

Composición química: información no disponible.



Nombre científico: *Dialium guianense*



Familia: *Fabaceae*

Nombre común: Cascarillo, cerveza, comenegro, gallinazo, iguano, loro, quiebrahacha, testarudo. Alfeñique, comenegro, guapaque, palo de lacandón, paludismo, paqui, sangrillo negro, slim (misquito), tamarindo de montaña, tamarindo silvestre, triquitraque.

Fig.5. *Dialium guianense*

Recolección: información no disponible.

Descripción botánica:

Árboles, hasta 35 m de alto, inermes, fúlcreos en la base, savia tornándose rojo brillante cuando expuesta. Hojas 1-pinnadas; folíolos 5–7 (–9), opuestos o alternos, ovados a lanceolados, 3–10 cm de largo y 1.5–4 cm de ancho, ápice agudo a acuminado, base redondeada a cuneada, membranáceos a subcoriáceos, glabros, reticulados, peciólulos 2–3 mm de largo, acanalados o aplanados adaxialmente. Inflorescencias racimos o panículas ramificadas, terminales o subterminales, a veces bastante extendidas, puberulentas o glabras, flores pequeñas, densamente pubescentes en yema, amarillo pálidas; sépalos 5, ovados, 2.5–3 mm de largo; pétalos ausentes; estambres 2, filamentos cortos y libres; ovario sésil a muy cortamente estipitado, pubescente, óvulos 2, estilo corto, estigma terminal. Fruto elipsoide a subgloboso, 1.5–2.5 cm de largo, cortamente estipitado, exocarpo café-ferrugíneo a algo purpúreo, delgado, frágil, endocarpo carnos, indehisciente; semilla generalmente 1 por fruto, comprimida, 6–8 mm de diámetro. (Tropicos, Flora de Nicaragua, 2009)

Distribución: Común, pluvioselva, zona atlántica; 50–600 m; fr feb–sep; Moreno 23126, Stevens 8348; sur de México a Brasil y Bolivia. Género pantropical con ca 40 especies, sólo ésta nativa de América. (Tropicos, Flora de Nicaragua, 2009).

Usos:

Agroforestales: En cultivos mixtos permanentes (cacao y café). Ecológicos: Apoyo en la dieta de poblaciones de avifauna silvestre, estabilización de cauces fluviales y recuperación de áreas degradadas. Industriales: La madera se emplea principalmente en construcción pesada (postes de cerca, pilotes, traviesas para vías férreas, vigas, puentes, ejes de carreta), construcciones marinas



y ocasionalmente en ebanistería (mangos para herramientas, puertas, marcos para ventanas). También se ha usado como combustible (leña y carbón).

Actividades farmacológicas: Los extractos de la corteza se reportan como útiles para tratar la odontalgia. La infusión de las hojas se emplea para tratar la diarrea y como colirio. (UICN, Especies para restauracion, 2015).

Composición química: información no disponible.



Nombre científico: *Varronia spinescens*.



Familia: *Boraginaceae*

Nombre comun: Chilincoco

Recolección: Departamento de madriz, municipio de Somoto a 13 Km de la ciudad de Somoto, sobre la carretera a Icalupe.

Fig.6. *Varronia spinescens*.

Descripción botánica.

Arbustos 1–3 m de alto, a veces laxos, ramitas puberulentas a hirsutas; plantas hermafroditas. Hojas deciduas, ovadas a elíptico-ovadas, (3.1–) 4–11.5 (–14.1) cm de largo y (1.4–) 2.2–6.5 (–7.8) cm de ancho, ápice agudo a atenuado, base obtusa a redondeada, márgenes gruesamente serrados a menudamente denticulados, escábridas en la haz; pecíolos (1–) 3–11 (–15) mm de largo, puberulentos a hirsutos. Inflorescencias espigas axilares, (1.3–) 2.5–8.5 (–11.5) cm de largo, pedúnculos adnados a la base del pecíolo, (1.1–) 2.2–4.5 (–6.5) cm de largo, puberulentos a hirsutos; flores distilas y sésiles; cáliz campanulado, (1.8–) 2.3–3.5 (–4.2) mm de largo, 5-lobado, los lobos deltados a triangulares; corola tubular, (3.1–) 3.8–5.4 (–6.2) mm de largo, blanca; estambres 5, los filamentos puberulentos debajo del punto de inserción, anteras elipsoides. Fruto drupáceo, rojo, 1/2 a casi totalmente envuelto por el cáliz ligeramente acrescente; hueso ovoide a ampliamente ovoide y 3.7–4.1 mm de largo. (Trópico, Flora de Nicaragua, 2009)

Distribucion: Común, en bosques húmedos, en pluvioselvas y en lugares alterados en las zonas norcentral y atlántica; 0–1500 m; fl y fr durante todo el año; Nayarit hasta Bolivia. Se diferencia por tener inflorescencias axilares y espigadas, con los pedúnculos adnados a los pecíolos. Tratada como *Cordia spinescens* en la *Flora de Nicaragua*. (Trópico, Flora de Nicaragua, 2009).

Usos: información no disponible.

Actividades farmacológicas: información no disponible.

Composición química: información no disponible.



Nombre científico: *Cascabela thevetia*.



Familia: Apocynaceae.

Nombre común: conocida como cascabel en España, retama en Venezuela y yellow oleander en Kenya-Africa y Florida. En México se le conoce como came en Michoacán y flor de San Pedro en San Luis Potosí. En Yucatán se le identifica como campanilla de oro, cascabel, azuceno, cabalonga, codo de fraile y venenillo (Elizabeth HERRERA PARRA, 2013).

Fig.7. *Cascabela thevetia*.

Recolección: Departamento de Madriz, municipio de Somoto, camino a la comunidad de los canales y san Francisco.

Descripción botánica:

Arbustos o árboles pequeños, 2–6 m de alto. Hojas lineares, 4–16 cm de largo y 0.2–1 (–1.4) cm de ancho, ápice agudo, base cuneado-atenuada. Inflorescencia con pocas flores amarillas; sépalos lanceolado acuminados, 4–6 (–10) mm de largo; corola tubular-infundibuliforme, tubo 4–5 cm de largo, los lobos 1–2 cm de largo. Frutos transversalmente oblongos, generalmente más o menos obtriangulares, 1.5–3.5 cm de largo y 2.5–4.5 cm de ancho, verdosos a amarillentos o purpúreos. (Trópico, Flora de Nicaragua, 2009)

Distribución: Ampliamente cultivada en todo el país; 10–1200 m; fl y fr todo el año; se dice que es nativa de México, pero también parece ser nativa en Perú y su distribución natural podría ser México a Perú. (Trópico, Flora de Nicaragua, 2009).

Usos: lubricante en fibras textiles, aceite curtidor y alternativa como fuente de combustible en sustitución del diesel petróleo. (Elizabeth HERRERA PARRA, 2013)

Actividades farmacológicas: los frutos se extrae la tevetina sustancia que se utiliza como estimulante cardíaco. (Elizabeth HERRERA PARRA, 2013)

Composición química: triterpenoides, fenoles y flavonoides. (HERRERA PARRA, 2013).



Nombre científico: *Luehea candida*.



Familia: *Malvaceae*

Nombre común: Molenillo.

Recolección: Departamento de Nueva Segovia, entre Ocotal y Ciudad Antigua.

Fig.8. *Luehea candida*.

Descripción botánica.

Arboles 2–14 m de largo; ramas jóvenes con tricomas estrellados de brazos largos, enredados, café-amarillentos. Hojas elípticas a ovadas (obovadas), 9.5–27 cm de largo y 6.5–15 cm de ancho, ápice agudo (acuminado), base obtusa a subcordada, margen serrado casi hasta la base, haz con dispersos tricomas estrellados de brazos largos, envés con tricomas estrellados densos a dispersos, de brazos largos, enredados y blancos hasta café-amarillentos sobre una capa inferior de tricomas blanco-aracnoides, nervios laterales 5–8 pares, par basal extendiéndose 1/3–3/4 la longitud de la hoja; pecíolos ca 0.5 cm de largo, densamente cubiertos con tricomas estrellados café-amarillentos de brazos largos. Flores solitarias o apareadas (3), bractéolas involucrales 15–19, 25–60 mm de largo, connadas basalmente 1/4–1/3, internamente densamente hirsutas a vellosas en el medio y aracnoides o cortamente estrelladas en los lados, externamente cortamente estrellado-tomentosas, persistentes en el fruto inmaduro; sépalos 30–40 mm de largo y 10 mm de ancho, internamente glabros a ligeramente pubescentes, externamente densamente tomentoso-estrellados; pétalos casi orbiculares, unguiculados, 40–55 mm de largo y 25–45 mm de ancho, glabros o cortamente blanco-vellosos en la base, blancos o amarillos; estaminodios 12–20 mm de largo, connados ca 1/3 basal, estambres 20–25 mm de largo, connados muy en la base; ovario 5-lobado. Fruto obovado a elíptico, 45–80 mm de largo y 25–50 mm de ancho, marcadamente 5-angulado y sulcado, dehiscencia apical 3/4 de la longitud, tricomas estrellados dispersos, glabrescente. (Trópico, Flora de Nicaragua, 2009)

Distribución: Común en bosques secos, laderas rocosas y escarpadas, y márgenes arenosos de ríos, conocida de todo el país excepto en el centro y sur de Zelaya y Río San Juan; 20–1300 m; centro de México al este de Venezuela. (Trópico, Flora de Nicaragua, 2009).

Usos: información no disponible.

Actividades farmacológicas: información no disponible.

Composición química: información no disponible.



Nombre científico: *Calathea macrosepala*.



Familia: Marantaceae.

Nombre común: Bijagua negra.

Recolección: información no disponible.

Fig.9. *Calathea macrosepala*

Descripción botánica:

Plantas caulescentes, 0.6–1.8 m de alto, secándose anualmente hasta quedar solamente el rizoma. Hojas basales 3–7 y 1–2 caulinares, láminas 24–90 cm de largo y 8–35 cm de ancho, ápice acuminado, verdes con diseños como plumas amarillo-verdes a lo largo del nervio principal, gris-verdes pálidas en el envés y ocasionalmente con 2 bandas longitudinales moradas; pulvínulo glabro excepto por una hilera de tricomas en la haz, verde-olivo, pecíolo glabro, verde, frecuentemente ausente, vaina tomentosa apicalmente, verde o rayada de morado. Inflorescencias ovoides a elipsoides, 4–10 cm de largo y 2.5–5 cm de ancho, brácteas (5–) 7–41, persistentes, erectas, menudamente tomentosas en la superficie externa, glabras o subglabras en el ápice en la interna, verde claras, flores cerradas; sépalos 18–28 mm de largo, blanco-cremas; corola crema a dorada, tubo 23–29 mm de largo. Cápsulas obovoides, redondeadas, cremas a amarillentas, sépalos persistentes; semillas grises. (Trópico, Flora de Nicaragua, 2009)

Distribución: Común, en bosques deciduos y perennifolios, frecuentemente en sitios alterados y en bosques de galería, ampliamente distribuida en las zonas pacífica y nor-central; 0–1000 m; México hasta el norte de Panamá. Las raíces abultadas y llenas de almidón son comestibles. Tratada equivocadamente como *C. allouia* (Aubl.) Lindl. En la *Flora of Guatemala* y en la *Flora of Panama*. (Trópico, Flora de Nicaragua, 2009).

Usos: información no disponible.

Actividades farmacológicas: información no disponible.

Composición química: información no disponible.



Nombre científico: *Miconia argentea*.



Familia: *Melastomataceae*

Nombre común: canillo; capirote; capirote blanco; lengua de vaca; muescro; oreja mula; rahua pata; santamaría; wahya puputni. (UICN, *Miconia argentea* (Sw.) DC., 2015)

Recolección: Departamento de Matagalpa, municipio de Waslala, carretera entre la ciudad de Waslala y la comunidad de el chile.

Fig.10. *Miconia argentea*.

Descripción botánica: Arbustos o árboles, 2–10 m de alto; ramitas, superficie del envés de la hoja, pecíolos, inflorescencias e hipantos cubiertos de un denso tomento estrellado, café-amarillento, los entrenudos distales marcadamente aplanados y de margen doble. Hojas ampliamente elípticas a elíptico-ovadas, 10–25 cm de largo y 5.5–15 cm de ancho, ápice gradual a abrupta y cortamente acuminado, base obtusa a redondeada, margen denticulado variando a entero, haz glabra, 5-nervias. Panícula 10–26 cm de largo, flores 5-meras, sésiles, bractéolas linear-oblongas, 1–2 mm de largo, caducas; lobos del cáliz inconspicuos, angostamente deltoides, 1 mm de largo, dientes exteriores no evidentes; pétalos oblicuamente obovado-oblongos, 2–3 mm de largo y 1.5–2 mm de ancho, glabros; anteras algo anisomorfas, linear-oblongas, alternadamente 1.5 mm y 2.5 mm de largo, el poro grande emarginado y marcadamente inclinado ventralmente, conectivo prolongado 0.5 mm y modificado ventribasalmente en un apéndice bilobado incurvado; ovario 3-locular, 1/2 ínfero, ápice glabro. Baya 3–4 mm de diámetro; semillas piramidales, 1 mm de largo, anguladas y lisas. (Trópico, Flora de Nicaragua, 2009)

Distribución: Común, en bosques caducifolios, bosques perennifolios, bosques de galería y pantanosos, bosques de pinos, laderas volcánicas erosionadas y acantilados de piedra caliza, sitios alterados, en todo el país de México (Oaxaca y Veracruz) a Panamá. (Trópico, Flora de Nicaragua, 2009)



Usos:

Agroforestales: Árboles aislados en potreros (sombra y refugio para el ganado), cercas vivas, huertos familiares y sombra de cultivos permanentes (café).

Ecológicos: Apoyo en la dieta de poblaciones de avifauna silvestres, conservación de suelos, estabilización de cauces fluviales, protección de mantos acuíferos y restauración de yermos.

Industriales: La madera se utiliza en ebanistería en general y para construcción de elementos interiores, también para fabricar muebles, duelas de barriles, cajas para embalaje, mangos para herramientas, postes para cercas y como combustible (leña y carbón). Adicionalmente los árboles de esta especie se han empleado en proyectos de arboricultura. (UICN, Especies para restauración. *Miconia argentea* (Sw.) DC., 2015)

Actividades farmacológicas: En Liberia, Guanacaste (Costa Rica), algunas personas hierven sus hojas y se las colocan en llagas, para que cicatricen pronto (UICN. *Miconia argentea* (Sw.) DC., 2015)

Composición química: información no disponible.



Hipótesis

Hipótesis de investigación.

Las diez especies vegetales recolectadas en la zona Norcentral de Nicaragua tienen actividad antioxidante, comprobándolo mediante el ensayo 2,2-Difenil 1-Picrilhidrazilo.

Hipótesis nula.

Ninguna de las especies recolectadas en la zona Norcentral de Nicaragua tiene actividad antioxidante, comprobándolo mediante el ensayo 2,2-Difenil 1-Picrilhidrazilo.

Hipótesis alternativa

El 50% de las especies vegetales recolectadas en la zona Norcentral de Nicaragua tienen actividad antioxidante, comprobándolo mediante el ensayo 2,2-Difenil 1-Picrilhidrazilo.



Materiales y métodos.

Tipo de estudio:

Tipo de estudio experimental.

Área de estudio:

Laboratorios de farmacognosia, y fisicoquímica de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNAN-León.

Población de estudio:

135 Especies vegetales recolectadas en la región nor-central de Nicaragua.

Muestra:

10 Especies vegetales recolectadas en los departamentos de Madriz, Nueva Segovia y Matagalpa.

Tabla N° 1. ESPECIES VEGETALES EN ESTUDIO.

Muestra	Nombre común	Parte utilizada
<i>Piper amalago L</i>	Cordoncillo	Hojas, tallos y frutos
<i>Celtis schipii standl</i>	Cagalera, wikius	Hojas y frutos
<i>Geonoma congesta H</i>	Caña de Danta	Hojas
<i>Columnnea linearis oerst.</i>	Sin nombre comun	Hojas.
<i>Dialium guianense.</i>	Come negro, tamarindo silvestre.	Hojas y tallos
<i>Varronia spinescens.</i> <i>Cordia spinescens</i> en la Flora de Nicaragua.	Chilincoco	Hojas
<i>Cascabela thevetia</i>	Chilca	Hojas y Frutos
<i>Luehea candida</i>	Guácimo de molenillo	Hojas
<i>Calathea macrosepala</i>	Platanillo	Hojas
<i>Miconia argétea</i>	Capirote	Hojas



Muestreo:

Aleatorio simple.

Criterios de inclusión:

Especies vegetales recolectadas o provenientes de la región nor-central de Nicaragua.

Extractos etanòlicos pertenecientes a las 10 especies vegetales en estudio.

Criterios de exclusión:

Especies no recolectadas o no provenientes de la región nor-central de Nicaragua.

Extractos etanòlicos de las plantas que no pertenezcan a las 10 especies vegetales en estudio.

Variables del estudio.

- Absorbancia.
- Concentración
- Porcentaje de inhibición.

Tabla N° 2. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES.

Variable	Definición	Dimensión	Escalas
Actividad Antioxidante	La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa gracias a su capacidad de reaccionar con radicales libres y, por lo tanto, recibe el nombre de antioxidante terminador de cadena.	Absorbancia del radical libre DPPH.	%
Capacidad atrapadora de radicales libres.	Capacidad de una sustancia para reducir la concentración al 50%.	0-100	%



MATERIALES Y EQUIPO.

En el desarrollo de la parte práctica se utilizó la siguiente lista de equipos, materiales y reactivos.

Cristalería de laboratorio:

- Tubos de ensayos de 10 mL.
- Tapones para tubos de ensayo.
- Tapones para matraces.
- Erlenmeyer 250 mL (Pyrex)
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 3 y 5 mL fisherbrand 5ml in 1/10 3#13-675 K made in USA.
- Pipetas serológicas de 1 y 5 mL.
- Beaker de 100, 250, 500 y 1000 mL KIMAX, USA No 14000)
- Espátula metálica.
- Micro pipeta.
- Cápsulas de porcelana.
- Probetas capacidad de 100 ml de vidrio Pyrex® USA No 3044 TC 20°C.
- Balones volumétricos de 50 y 100 mL TC 20°C, PYREX®, USA, No 55640.
- Gradillas de madera y metálicas.

Material descartable:

- Papel aluminio.
- Puntas para micro pipetas
- Toallas de mano.

Equipos:

- Espectrofotómetro UV-Visible HEWLETT PACKARD, 8453, wty WABX, Sup. SAAS, Model XA/133, PROD. 03986A ABA
- Balanza analítica de precisión T214S, Sartorius.
- Celda vidrio para espectrofotómetro UV -visible, capacidad 4ml 45x10mm



Reactivos:

- Dimetilsulfoxido (DMSO), marca Fisher, grado reactivo analítico.
- 2-2-difenil-1-picrilhidrazilo. (DPPH), grado reactivo analítico.
- Etanol birrectificado al 96%.
- Ácido Ascórbico Power, marca Merck, grado reactivo analítico.
- Agua destilada.
- Extractos etanólicos de 10 especies vegetales.

PROCEDIMIENTOS.

Recolección de la información: La recolección de la información se realizó utilizando fuentes de información secundaria como: revistas científicas electrónicas, libros, artículos científicos, tesis, bases de datos, entre otras.

Recolección de plantas: La recolección de las plantas se llevó a cabo en la región nor-central de Nicaragua obteniendo muestras de diferentes especies, una vez recolectadas las muestras fueron empacadas por los recolectores del herbario rotulándolas con sus nombres para su identificación y luego se procedo a almacenarlas guardándolas en bolsas plásticas hasta la fecha de inicio de su uso.

La metodología consiste en recolectar 2 kg de hojas, tallos, flores o frutos, además 3 muestras de 30 cm para vouchers de herbario. Cada especie recolectada se le toma fotos, luego se empacan las muestras en el campo agregando un poco de alcohol para preservarlas mientras se secan. En el herbario se secan, se identifican taxonómicamente, se pulverizan, se montan en cartulinas de herbario, se digitaliza toda la información, se archivan las muestras que quedan en nuestra colección.

Secado: Las muestras recolectadas se colocaron en papel periódico rotulado con el nombre de cada muestra. En aquellos casos en que los ejemplares de las muestras son de tamaño considerable se tuvo cuidado de doblarlas con cuidado para no dañarlas. Luego se empacaron en papel periódico, se guardó en bolsas plásticas y se alcoholizo agregándoles etanol al 90 % hasta que se observó el papel húmedo.

El tiempo de secado se realizó en una estufa 45 °C por un día.



Pulverización: Las muestras fueron pulverizadas haciendo uso del molino eléctrico de cuchillas ubicado en el laboratorio de farmacognosia de la facultad de Ciencias Químicas.

Extracción: para realizar la extracción de los componentes activos se utilizó el método de maceración estática, pesando para ello 100 gramos del material pulverizando y agregándole etanol al 95% procurando que el volumen de alcohol fuese el necesario para cubrir el polvo de la muestra. A partir de este punto se dejó la muestra en maceración en frío, se procedió a filtrar y el filtrado se colocó en capsulas de porcelana hasta la evaporación del solvente obtenido el extracto seco, mismo que guardamos en frascos de Gerber y en refrigeración hasta el comienzo de su uso en el laboratorio.

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

Se pesó 3.5 mg de cada uno de los extractos secos, se le adiciono 123 μL del reactivo DMSO dejando reposar 24 horas.

1. Trascurrido el tiempo de reposo de las muestras, se preparó el reactivo DPPH, pesando para ello 0.0072g, se transfirió a un matraz volumétrico de 50 mL disolviendo y aforando con etanol al 95% para obtener una concentración de 144 $\mu\text{g/mL}$. Se dejó en la oscuridad una vez preparado para evitar la oxidación del reactivo. (el tiempo óptimo para el uso del reactivo es de un día, ya que el mismo tiende a oxidarse en presencia de luz).
2. Paralelamente se preparó una solución de Ácido ascórbico (vitamina C) a una concentración de 0.1 % p/v, pesando para ello 0.05 g de ácido ascórbico transfiriendo el polvo a un matraz volumétrico de 50 mL disolviendo y aforando a volumen con etanol al 95 %.
3. Los tubos de ensayo que contienen las muestras con DMSO, se le adiciono 2000 μL de DPPH, y 1377 μL de etanol para completar un volumen de 3500 μL y una concentración final de cada muestra de 1mg/mL. (3.5 mg/3.5 mL).
4. Se preparó el **blanco** adicionando para ello en un tubo de ensayo 175 μL de DMSO y 3325 μL de etanol.
5. Se preparó una **muestra negativa** agregando en un tubo de ensayo 175 μL de DMSO, 2000 μL de DPPH y 1325 μL de etanol.
6. Se preparó la **muestra de referencia**, para lo cual se agregó en un tubo de ensayo 175 μL de DMSO, 175 μL de Vitamina C, 2000 μL de DPPH y 1150 μL de etanol.



7. Se procedió a leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda máxima de 517 nm cada una de las soluciones contenidas en los tubos de ensayos, el orden de lectura fue el siguiente: solución blanco, muestra negativa (en el equipo se lee como estándar), muestra de referencia (en el equipo se lee como muestra), y por último se leyó cada una de las muestras.
8. Con las absorbancias obtenidas se procedió a calcular el porcentaje de inhibición para cada una de las muestras con la siguiente fórmula.

9.
$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{abs. DPPH} - \text{abs. Muestra}}{\text{abs. DPPH}} * 100$$

Dónde: abs. Muestra: Absorbancia de la muestra.

Abs.DPPH: Absorbancia del muestra negativa.

Las muestras con un porcentaje > 25 % de inhibición se leyeron nuevamente en el equipo realizando diluciones a 10, 50, 100, 250 y 500 µg/mL.

- Para la preparación de las diluciones de aquellas muestras cuyos % inhibición fue > 25% se procedió de la siguiente manera:
- Se pesó 50 mg de muestra y se le adiciono 1750 µL de DMSO, y se dejó reposar 24 horas, transcurrido este tiempo se le agrego 8250 µL de etanol para completar un volumen de 10 mL y obtener una concentración de 5 mg/mL (Solución Madre).



- A partir de la solución madre de cada muestra se preparó las diluciones a las diferentes concentraciones.

Tabla N°3. Concentraciones de las diluciones de las muestras.

Concentración final	Preparación
10 µg/mL.	10 µL de la solución madre + 2000 µL de DPPH + 2990 µL de etanol.
50 µg/mL.	50 µL de la solución madre + 2000 µL de DPPH + 2950 µL de etanol.
100 µg/mL.	100 µL de la solución madre + 2000 µL de DPPH + 2900 µL de etanol.
250 µg/mL.	250 µL de la solución madre + 2000 µL de DPPH + 2750 µL de etanol.
500 µg/mL.	500 µL de la solución madre + 2000 µL de DPPH + 2500 µL de etanol.

- Una vez preparada las diluciones de las muestras, seguir los pasos del 4 al 10 del mismo procedimiento para obtener el % de inhibición de las muestras a las distintas concentraciones.

Procesamiento de los datos

Los datos se procesaron en el programa de Microsoft Word para la elaboración y visualización de la información obtenida y Excel 2013 donde se elaboraron tablas para calcular el % de inhibición de cada uno de los extractos etanólicos.



Resultados

Tabla N°4. Tabla de muestras con % de inhibición $\geq 25\%$

Nombre de las especies (Muestras 1mg/mL)	% de inhibición
<i>Piper amalago L</i>	99.94
<i>Luehea candida</i>	97.49
<i>Dialium guianense.</i>	97.45
<i>Geonoma congesta H</i>	91.10
<i>Columnnea linearis oerst.</i>	82.35
<i>Celtis schipii standl</i>	79.33
<i>Cascabela thevetia</i> (hojas)	77.98
<i>Cascabela thevetia</i> (fruto)	65.58
<i>Miconia argéntea</i>	56.46
<i>Varronia spinescens.</i>	53.70
<i>Calathea macrosepala</i>	42.19



Tabla N°5 muestras con % inhibición $\geq$ 50%.

Muestras	
Concentración Mcg/mL	% inhibición
<i>Luehea candida</i>	
10	32,02
50	32,11
100	32,73
250	35,54
500	43,12
<i>Columnnea linearis oerst.</i>	
10	35,68
50	36,07
100	36,36
250	36,61
500	40,11
<i>Miconia argétea</i>	
10	28,24
50	31,02
100	31,47
250	31,61
500	37,59



<i>Varronia spinescens.</i>	
10	51,55
50	52,53
100	53,61
250	57,08
500	70,85
<i>Calathea macrosepala</i>	
10	46,19
50	59,27
100	74,84
250	96,72
500	97,53
”hojas” <i>Cascabela thevetia</i>	
10	50,03
50	51,33
100	52,32
250	60,37
500	67,69
”fruto” <i>Cascabela thevetia</i>	
10	18,22
50	18,90
100	19,29
250	20,50
500	20,73
<i>Geonoma congesta H</i>	
10	56,12
50	61,16
100	65,03
250	72,18



500	85,01
<i>Celtis schipii standl</i>	
10	15,64
50	17,34
100	24,81
250	29,69
500	35,18
<i>Piper amalago L</i>	
10	23,22
50	25,38
100	36,76
250	75,89
500	62,93
<i>Dialium guianense.</i>	
10	11,72
50	16,98
100	28,48
250	52,68
500	85,74



Análisis de resultados

Según los resultados obtenidos en la tabla N^o1 que todas las especies en estudio presentan actividad antioxidante promisorio, con un porcentaje de inhibición $\geq 25\%$, por lo cual se procedió a realizarle diluciones a (10, 50, 100, 250, 500) mcg/mL para evaluar la actividad antioxidante $\geq 50\%$.

En la tabla N^o2 se observa que se obtuvieron tres especies con actividad atrapadora de radicales libres $\geq 50\%$ en todas sus concentraciones, dichas especies fueron: especies *Varronia spinescens*, *Geonoma congesta* H, *Cascabela thevetia* (**hojas**), así mismo otra especie con actividad atrapadora de radicales libres $\geq 50\%$ en sus cuatro concentraciones superiores siendo esta especie *Calathea macrosepala*.

Dos de las especies en estudio, *Dialium guianense*, *Piper amalago* L. Mostraron actividad atrapadora de radicales libre $\geq 50\%$ solamente en las dos concentraciones 250 y 500 mcg/mL.

Luehea candida, *Columnnea linearis* oerst, *Miconia argétea*, *Celtis schipii* standl y *Cascabela thevetia* (**fruto**) presentaron una actividad inhibitoria menor al 50%.



Conclusión

Al llevar a cabo el ensayo DPPH los resultados indicaron que todas especies tienen actividad antioxidante promisorio, ya que todas presentaron capacidad atrapadora de radicales libres mayor al 25%; es por ello que se realizó la evaluación de ellos mediante el mismo ensayo en cinco diluciones a niveles de concentración de 10, 50, 100, 250 y 500mcg/mL; después de haber terminado el estudio de las 10 especies vegetales, podemos ver que los extractos etanólicos de *Varronia spinescens*, *Geonoma congesta* H, *Cascabela thevetia* (**hojas**), son las que presentaron capacidad atrapadora mayor al 50 % en todas las concentraciones en las que se realizó dicho ensayo, por lo cual son las que consideremos con mayor relevancia en el estudio ya que esto nos indica que cuentan con actividad antioxidante inminente; seguido de esto los extractos correspondientes a *Calathea macrosepala* con cuatro concentraciones de igual manera mayores al 50% de capacidad inhibitoria dando por hecho que cuenta con propiedad antioxidante significativa, le siguen las muestras correspondientes a los extractos de *Piper amalago* L y *Dialium guianense* siendo que estos solo obtuvieron porcentajes de inhibición mayores al 50% en sus concentraciones más altas; sin embargo para las muestras como: *Luehea candida*, *Columnnea linearis* oerst, *Miconia argétea*, *Celtis schipii* standl y *Cascabela thevetia* (**fruto**) a las concentraciones preparadas no fueron las adecuadas para que mostraran actividad, siendo consideradas muy bajas, ya que el porcentaje de inhibición no llegó al 50% en ninguna de ellas.



Recomendaciones

- ❖ Continuar realizando estudios a las especies, con otros ensayos que determinen actividad biológica.
- ❖ Determinar actividad biológica utilizando otras partes de las plantas en estudio.
- ❖ Realizar pruebas de identificación de compuestos que contenga actividad antioxidante.
- ❖ Promover nuevas investigaciones sobre plantas con propiedad medicinal.



Anexos.

Figura 11. Muestra de referencia, muestra negativa, blanco.



Figura 12 concentraciones (10, 50, 100, 250, 500) mcg/mL *Calathea macrosepala*.

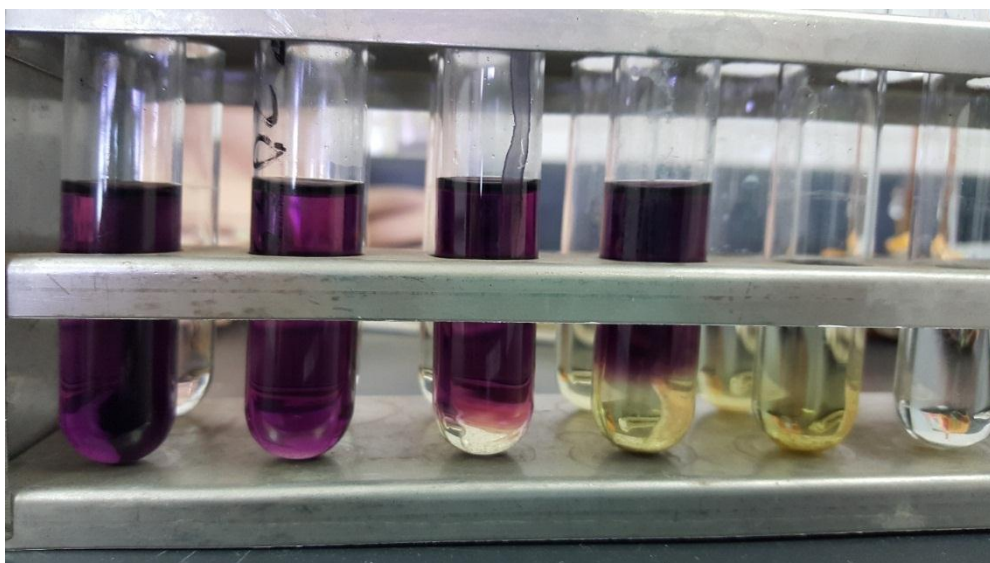
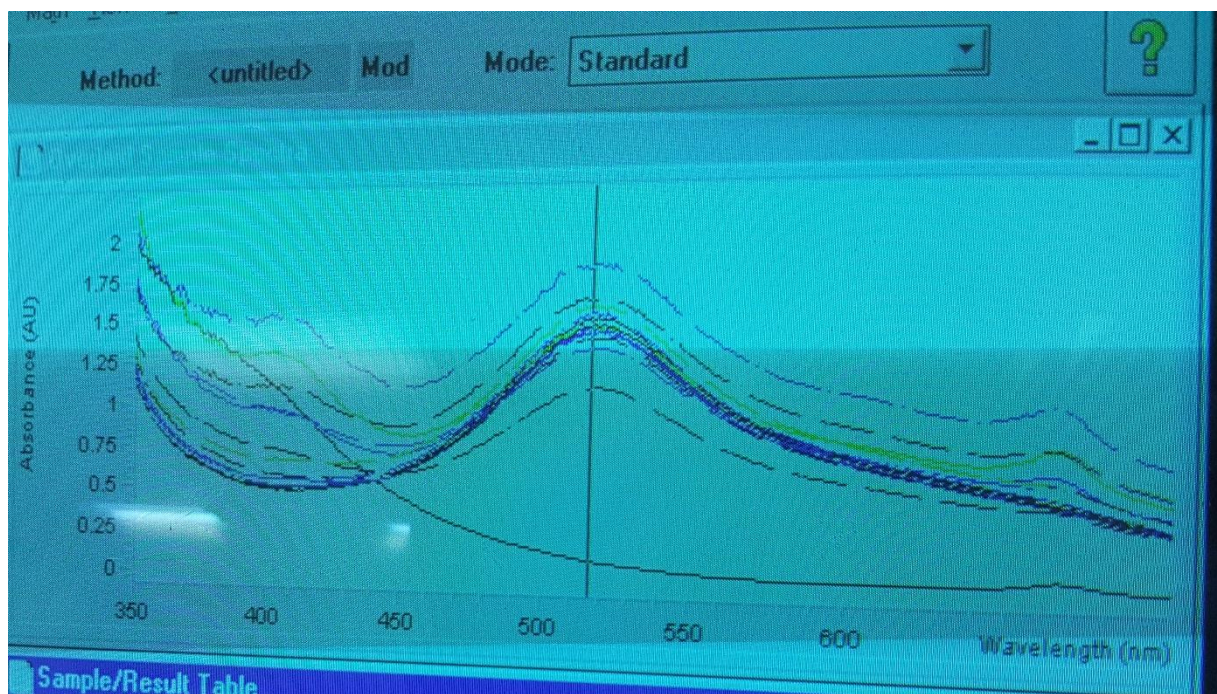




Figura 13. *Piper amalago* L y *Geonoma congesta* H.



Figura 14. Espectros de las especies.





Bibliografía

- 1) Ana Carrion, C. G. (2010). PREPARACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES: DETERMINACIÓN DE EFICIENCIA DE METÓDICA. *Tesis previa a la obtención del título de Bioquímica y Farmacéutica*. cuenca., ecuador: UNIVERSIDAD DE CUENCA.
- 2) Ariana Aguirre, M. A. (MARZO-AGOSTO de 2013). EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE 18 ESPECIES VEGETALES A TRAVES DEL ENSAYO DPPH RECOLECTADAS EN EL DEPARTAMENTO DE MATAGALPA. LEON. Recuperado el 27 de septiembre de 2018, de <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/820/1/226031.pdf>
- 3) Castellon S, K. D. (mayo de 2015). Evaluacion de la actividad biologica de diez y siete especies vegetales recolectadas en la zona norcentral de nicaragua, octubre 2014-mayo-2015. Leon.
- 4) David A. Bender. (2009). Radicales libres y nutrientes antioxidantes. En B. D. MURRAY R, *HARPER BIOQUIMICA ILUSTRADA* (29 ed., págs. 543-546). MEXICO: MC Graw Hill.
- 5) Dos santos V, F. c. (2015). Anatomical investigations of piper amalago(jaborandi-manso) for the quality control. *Revista Brasileña de farmacognosia.*, 85- 91. Recuperado el 20 de Septiembre de 2018, de <https://ac.els-cdn.com/S0102695X15000484/1-s2.0-S0102695X15000484-main.pdf?>
- 6) E. Marta KUSKOSKI, A. G. (2005). APLICACIÓN DE DIVERSOS MÉTODOS QUÍMICOS PARA DETERMINAR ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN PULPA DE FRUTOS. *scielo*, 726-732. Recuperado el 5 de septiembre de 2018, de <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>
- 7) Elizabeth HERRERA PARRA, J. C. (Noviembre de 2013). Producción y manejo de Ah kits (Thevetia peruviana) especie potencial para la producción de biodiesel. Mocochoá, Yucatán, mexico. Recuperado el 15 de Octubre de 2018
- 8) Emilio Guija, M. I. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horis Med*, 57-60.
- 9) Gomez L, S. D. (2013). *la selva florula digital*. Recuperado el 22 de septiembre de 2018, de https://sura.ots.ac.cr/local/florula4/find_sp.php?key_species_code=LS000310&key_family=Arecaceae&key_genus=Geonoma&specie_name=congesta#
- 10) Gonzales, A. (abril de 2004). trabajo final. *OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES Y EXTRACTOS ETANOLICOS DE PLANTAS DEL AMAZONAS*. colombia: universidad nacional de colombia.
- 11) Ludy Pabon, J. V. (2013). Actividad antioxidante y antibacteriana de extractos de hojas de cuatro especies agroforestales de la Orinoquía colombiana. *Revista cubana de plantas medicinales*, 57-70.
- 12) Luisa Rojas, C. J. (2015). Métodos analíticos para la determinación de metabolitos secundarios. Machala, Ecuador.
- 13) Trópico. (2009). *Flora de Nicaragua*. Recuperado el 28 de agosto de 2018, de Varronia spinescens (L.) Borhidi: <https://www.tropicos.org/Name/50287357?projectid=7>



- 14) Trópico. (2009). *Flora de Nicaragua*. Recuperado el 10 de septiembre de 2018, de Cascabela thevetia: <https://www.tropicos.org/Name/1806031?projectid=7>
- 15) Trópico. (2009). *Flora de Nicaragua*. Recuperado el 20 de octubre de 2018, de Calathea macrosepala: <https://www.tropicos.org/Name/19700065?projectid=7>
- 16) Trópico. (2009). *Flora de Nicaragua*. Recuperado el 5 de octubre de 2018, de Miconia argentea: <https://www.tropicos.org/Name/20302666?projectid=7>
- 17) Trópico. (2009). *Flora de Nicaragua*. Recuperado el 12 de octubre de 2018, de Luehea candida (DC.) Mart: <https://www.tropicos.org/Name/32200235?projectid=7>
- 18) tropico. (10 de abril de 2016). *Flora de Nicaragua*. Recuperado el 20 de septiembre de 2018, de Geonoma congesta : <https://www.tropicos.org/Name/2400474?projectid=7>
- 19) tropicos. (2009). *Flora de nicaragua*. Recuperado el 2018 de septiembre de 22, de Columnea linearis Oerst.: <https://www.tropicos.org/Name/14000070?projectid=7>
- 20) Tropicos. (2009). *Flora de Nicaragua*. Recuperado el 30 de agosto de 2018, de Celtis schippii Standl.: <https://www.tropicos.org/Name/33300043?projectid=7>
- 21) Tropicos. (2009). *Flora de Nicaragua*. Recuperado el 9 de septiembre de 2018, de Dialium guianense (Aubl.) Sandwith: <https://www.tropicos.org/Name/13017824?projectid=7>
- 22) Tropicos. (2009). *Flora de Nicaragua*. Recuperado el 10 de septiembre de 2018, de Piper amalago L.: <http://www.tropicos.org/Name/25001130?projectid=7&langid=66>
- 23) UICN. (2015). *celtis schippii*. Recuperado el 20 de septiembre de 2018, de Especies para restauracion: https://www.especiesrestauracion-uicn.org/data_especie.php?sp_name=Celtis%20schippii.
- 24) UICN. (2015). *Especies para restauracion*. Recuperado el 3 de octubre de 2018, de Dialium guianense (Aubl.) Sandwith: http://www.especiesrestauracion-uicn.org/data_especie.php?sp_name=Dialium%20guianense.
- 25) UICN. (2015). *Especies para restauracion*. *Miconia argentea (Sw.) DC.* Recuperado el 18 de Septiembre de 2018, de [www.especiesrestauracion-uicn.org/data_especie.php?sp_name=Miconia argentea](https://www.especiesrestauracion-uicn.org/data_especie.php?sp_name=Miconia%20argentea)