



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL INHIBITORIO DE LA
FRACCIÓN ALCALOIDAL DE *Psychotria poeppigiana* SOBRE
XANTINA OXIDASA Y RADICAL SUPERÓXIDO MEDIANTE
AUTOGRAFÍA”**

Trabajo de Titulación

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar por el grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: LISBETH MADELEY PAZOS URBANO

DIRECTOR: BQF. DIEGO RENATO VINUEZA TAPIA, M.Sc.

Riobamba-Ecuador

2020

© 2020, Lisbeth Madeley Pazos Urbano

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Lisbeth Madeley Pazos Urbano, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación: El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 18 de febrero de 2020



Lisbeth Madeley Pazos Urbano

C.I. 210090691-2

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del trabajo de titulación certifica que: El Trabajo de titulación Tipo: Trabajo Experimental, “**DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL INHIBITORIO DE LA FRACCIÓN ALCALOIDAL DE *Psychotria poeppigiana* SOBRE XANTINA OXIDASA Y RADICAL SUPERÓXIDO MEDIANTE AUTOGRAFÍA**”, realizado por la señorita **LISBETH MADELEY PAZOS URBANO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación. El mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

FIRMA

FECHA

BQF. John Marcos Quispillo Moyota

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

2020-02-18

BQF. Diego Renato Vinuesa Tapia, MSc.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE

TITULACION

2020-02-18

BQF. Gisela Alexandra Pilco Bonilla, MSc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

2020-02-18

DEDICATORIA

A mis padres Mario y Marcia quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido alcanzar un peldaño más en mi vida, me enseñaron a no rendirme jamás y a luchar para lograr las metas trazadas.

Lisbeth

AGRADECIMIENTO

Son tantas a las personas que quiero agradecer que no me va alcanzar la vida para hacerlo, sin embargo, estas líneas son para ustedes.

A Dios por ser mi guía espiritual, ayudarme a tomar las decisiones correctas en cada una de las situaciones a las cuales he tenido que hacerle frente.

No tengo palabras que alcancen para expresar mi agradecimiento a ustedes padres Marcita y Mario, por tanto amor, esfuerzo, comprensión y generosidad gracias infinitas por ser el pilar fundamental de mi vida, apoyarme en mis sueños y velar por mí como lo han hecho.

A mis hermanas Jenny e Irlanda por tanto amor incondicional que he recibido de ustedes durante mi vida, por cuidarme desde muy pequeña hasta ahora.

A mi cuñado Wilson Salazar quien me ha motivado para que sea una gran profesional y nunca deje de estudiar.

A mis amigos con quienes formé una nueva familia lejos de mi hogar, gracias por tantas aventuras, buenos y malos momentos porque me demostraron que la familia no siempre es de sangre.

A la familia Chávez López quienes fueron parte de este proceso llamado Tesis, me apoyaron y sobre todo me dieron ánimos de continuar.

A mi Director de Tesis BQF. Diego Vinueza por su apoyo durante esta investigación e incentivar me a seguir aprendiendo cada día.

A mis profesores de la escuela de Bioquímica y Farmacia quienes me han inculcado el amor por la investigación y el conocimiento.

A mi querida ESPOCH, que me recibió con cariño en sus aulas y me formó no solo académicamente sino también como ser humano.

Lisbeth

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xivv
SUMMARY	xv
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	4
1.1. Familia Rubiaceae.....	6
1.1.1. Características	6
1.1.2. Distribución mundial.....	6
1.2. Género <i>Psychotria</i>	7
1.2.1. Características.....	7
1.2.2. <i>Etnobotánica</i>	7
1.2.3. <i>Alcaloides de Psychotria</i>	8
1.2.4. Actividad Biológica	9
1.2.4.1 <i>Antiviral</i>	9
1.3. <i>Psychotria poeppigiana</i>	10
1.3.1. Descripción botánica.....	10
1.3.2. Distribución geográfica	10
1.3.3. Usos tradicionales	11
1.3.4. Composición química	11
1.4. Xantina oxidasa (XO)	11

1.4.1.	Características.....	11
<i>1.4.2.</i>	<i>Estructura.....</i>	<i>12</i>
1.4.3.	Mecanismo de acción	12
1.4.4.	Papel fisiológico de la XO.....	13
1.4.5.	Distribución de la XO	13
1.5.	Hiperuricemia	14
<i>1.5.1.</i>	<i>Epidemiología</i>	<i>14</i>
<i>1.5.2.</i>	<i>Etiología</i>	<i>14</i>
<i>1.5.3.</i>	<i>Factores de riesgo</i>	<i>14</i>
<i>1.5.4.</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>15</i>
1.6.	Inhibidores de XO.....	15
<i>1.6.1.</i>	<i>Alopurinol</i>	<i>15</i>
<i>1.6.2.</i>	<i>Febuxostat</i>	<i>16</i>
1.7.	Estrés oxidativo.....	17
1.7.1.	Tipos de estrés oxidativo según su origen.....	17
1.7.2.	Antioxidantes.....	18
1.7.3.	Relación con otras enfermedades	19
1.8.	Autografía.....	19
1.8.1.	Autografía de contacto	19
1.8.2.	Autografía directa.....	20
1.8.3.	Autografía por inmersión.....	20
1.9.	Determinación de Inhibidores de Xantina Oxidasa.....	20
1.9.1.	Sistema xantina/xantina oxidasa/ NBT	20
1.10.	Determinación de radicales libres	21
<i>1.10.1</i>	<i>Método DPPH·</i>	<i>21</i>
<i>1.10.2.</i>	<i>Sistema Riboflavina/Luz/NBT</i>	<i>22</i>
<i>1.10.3.</i>	<i>Sistema NADH/Metosulfato de Fenazina (PMS)/NBT</i>	<i>22</i>

CAPITULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	24
2.1.	Lugar de la investigación	24
2.2.	Recolección de la materia vegetal.....	24
2.3.	Identificación botánica	24
2.4.	Equipos, materiales y reactivos	25
2.4.1.	<i>Equipos</i>	25
2.4.2.	<i>Materiales</i>	26
2.4.3.	Reactivos	27
2.5.	Acondicionamiento de la materia vegetal	29
2.6.	Técnicas y procedimientos	29
2.6.1.	<i>Control de calidad</i>	29
2.6.2.	Tamizaje fitoquímico	30
2.6.3.	Obtención del extracto alcaloidal	30
2.6.4.	Cromatografía en capa fina	31
2.6.5.	Autografía.....	31

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS	34
3.1.	Control de calidad de la materia vegetal	34
3.2.	Tamizaje Fitoquímico.....	35
3.3.	Obtención de alcaloides	36
3.4.	Cromatografía en capa fina TLC	36
3.5.	Autografía-Ensayos	37
3.5.1.	Captación DPPH·	37
3.5.2.	Riboflavina/Luz/NBT	38
3.5.3.	NADH/PMS/NBT	39

3.5.4. Inhibición de XO (xantina oxidasa).....	40
3.6. Discusión.....	41
CONCLUSIONES.....	43
RECOMENDACIONES.....	44
GLOSARIO	
BIBLIOGRAFIA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2: Equipos utilizados.....	25
Tabla 2-2: Materiales utilizados.....	25
Tabla 3-2: Reactivos utilizados.....	26
Tabla 1-3: Datos del control de calidad.....	33
Tabla 2-3: Tamizaje fitoquímico.....	34
Tabla 3-3: Extracto alcaloidal de <i>Psychotria poeppigiana</i>	35
Tabla 4-3: Cromatografía en capa fina.....	35
Tabla 5-3: Ensayo de DPPH.....	36
Tabla 6-3: Sistema Riboflavina/Luz/NBT.....	37
Tabla 7-3: Sistema NADH/PMS/NBT.....	38
Tabla 8-3: Inhibición xantina oxidasa.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: <i>Psychotria poeppigiana</i>	10
Figura 2-1: Estructura Xantina Oxidoreductasa.....	12
Figura 3-1: Producción y eliminación de ácido úrico.....	13
Figura 4-1: Estructura química de Alopurinol.....	16
Figura 5-1: Estructura química de Febuxostat.....	17
Figura 6-1: Mecanismo de acción xantina/xantina oxidasa/NBT.....	21
Figura 7-1: Mecanismo de acción DPPH.....	22
Figura 8-1: Reducción NBT.....	22
Figura 9-1: Mecanismo de reducción de NBT.....	23

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3: Áreas de captación de DPPH, concentración <i>P. poeppigiana</i> y concentración de ácido ascórbico.....	37
Gráfico 2-3: Áreas de captación de O_2^- , concentración de <i>P. poeppigiana</i> y taxifolina.....	38
Gráfico 3-3: Áreas de captación de radical superóxido a partir de NAND/PMS/NBT Taxifolina y <i>P. Poeppigiana</i>	39

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: RECOLECCIÓN DE *PSYCHOTRIA POEPPIGIANA*

ANEXO B: CONTROL DE CALIDAD DE *PSYCHOTRIA POEPPIGIANA*

ANEXO C: TAMIZAJE FITOQUÍMICO

ANEXO D: EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES DE *PSYCHOTRIA POEPPIGIANA*

ANEXO E: AUTOGRAFÍA

ANEXO F: GUÍA DE MOVILIZACIÓN

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el potencial inhibitorio de la fracción alcaloidal de *Psychotria poeppigiana* sobre xantina oxidasa y radical superóxido mediante autografía. Para lo cual se empleó como sustrato xantina, la fracción alcaloidal a diferentes concentraciones (1,5,10,50,100 µg), se disolvió en una mezcla con solución buffer de fosfato y dimetilsulfóxido y xantina oxidasa. La capacidad para captar radical superóxido se determinó empleando dos técnicas. La primera estuvo a cargo del sistema: Riboflavina, Nitroazul de tetrazolio y luz, en la segunda intervino el sistema formado por NADH, nitroazul de tetrazolio y metosulfato de fenazina, el estándar presente en los dos casos fue taxifolina. Se utilizó placas de cromatografía en capa fina (TLC), las muestras fueron sembradas aplicando la técnica dot-blot, la fase móvil estuvo compuesta por cloroformo, trietilamina y metanol (6:0, 5:0, 6), la longitud de onda para revelar las placas fue de 254nm. El estándar que se empleó para valorar la actividad antioxidante mediante el método de DPPH· fue el ácido ascórbico, mientras tanto, para evaluar el potencial de inhibición sobre la xantina oxidasa el estándar fue Alopurinol y el sustrato xantina, a partir de los ensayos realizados se logró identificar un captador de radical superóxido y un inhibidor puro de xantina oxidasa. El software GelAnalyzer determinó las áreas de inhibición. Los datos obtenidos tanto cuantitativos como cualitativos se pueden reflejar en el diámetro de los halos formados y en la coloración de las soluciones respectivamente. El extracto alcaloidal de *Psychotria poeppigiana* presenta capacidad para captar radicales superóxido frente a los sistemas Riboflavina/Luz/NBT y NADH/PMS/NBT, mientras tanto la inhibición sobre xantina oxidasa es nula. Se debe realizar estudios más profundos al extracto de *Psychotria poeppigiana*, ya que presenta un sin número de compuestos con actividades farmacológicas.

Palabras clave: <XANTINA OXIDASA>, <*Psychotria poeppigiana*>, <ANTIOXIDANTE>, <AUTOGRAFÍA>, <RADICAL SUPERÓXIDO>, <ALCALOIDES>, <INHIBICIÓN>

REVISADO

06 FEB 2020

Ing. Jhonatan Parreño Urdaneta, MSc.
(ANALISTA DE BIODIVERSIDAD)

SUMMARY

The present study aimed to determine the inhibitory potential of the alkaloidal fraction of *Psychotria poeppigiana* on xanthine oxidase and superoxide radical by autography. For this target, the xanthine substrate was used, the alkaloidal fraction at different concentrations (1, 5, 10, 50, 100 µg) was dissolved in a mixture with phosphate buffer solution and dimethylsulfoxide and xanthine oxidase. The ability to capture superoxide radical was determined using two techniques; the first was in charge of the system: Riboflavin, tetrazolium Nitroazul and light; in the second, the system formed by NADH, tetrazolium nitroazul and phenazine methosulfate, the standard present in both cases was taxifoline. Thin layer chromatography (TLC) plates were used, the samples were seeded using the dot-blot technique, the mobile phase was composed of chloroform, triethylamine and methanol (6: 0, 5: 0, 6), and wavelength to reveal the plates was 254nm. The standard that was used to assess the antioxidant activity using the DPPH method was ascorbic acid, meanwhile, to evaluate the inhibition potential on xanthine oxidase the standard was Alopurinol and the xanthine substrate. From the tests performed, it was identified a superoxide radical scavenger and a pure xanthine oxidase inhibitor. The GelAnalyzer software determined the areas of inhibition. The data obtained both quantitative and qualitative can be reflected in the diameter of the halos formed and in the color of the solutions respectively. The alkaloidal extract of *Psychotria poeppigiana* has the capacity to capture superoxid radicals against the Riboflavin/Light/NBT and NADH/PMS/NBT systems, while the inhibition on xanthine oxidase is void. Further studies should be carried out on the extract of *Psychotria poeppigianam* since it presents an extensive number of compounds with pharmacological activities.

Keywords: Xanthine Oxidase, *Psychotria poeppigiana*, Antioxidant, Autograph, Radical Superoxide, Alkaloids, Inhibition.



INTRODUCCIÓN

La enzima xantina oxidasa (XO) es la responsable de la formación de ácido úrico interviene en el catabolismo de las bases purinas, es decir, en la transformación de hipoxantina a xantina (Ferrando et al., 2014:p.294), generando especies reactivas de oxígeno (ROS), radicales superóxido y peróxido de hidrógeno, siendo los principales responsables de un sinnúmero de patologías como: envejecimiento prematuro, afecciones cardíacas y enfermedades de tipo metabólico, debido al estrés oxidativo que generan (Torres-Osorio et al., 2019:p.434). Por lo que al inhibir la producción excesiva de xantina oxidasa se está reduciendo el incremento de ácido úrico y de especies reactivas de oxígeno.

Las especies reactivas de oxígeno son moléculas que se generan a partir de la reducción parcial del oxígeno molecular (Covarrubias et al., 2008:p.4). Cuando se presenta una producción exagerada de especies reactivas de oxígeno, pueden superar la defensa celular y ocasionar un proceso conocido como estrés oxidativo, el daño se da principalmente a nivel de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Torres-Osorio et al., 2019:p.436).

La hiperuricemia puede dar lugar a un evento clínico conocido como artritis gotosa aguda, el fenómeno se debe a la presencia de cristales de urato monosódico a nivel de las articulaciones (Goicoechea et al., 2012:p.5). La prevalencia de gota a nivel mundial está en aumento y afecta alrededor del 1-2% de la población adulta en los países desarrollados, en Reino Unido en hombres puede llegar hasta el 7% y en mujeres mayores de 75 años al 3% (Chalès et al., 2017:p.6). A pesar de que la gota es menos común en mujeres, su incidencia y prevalencia aumenta después de la menopausia, al perderse el efecto uricosúrico de los estrógenos (Chalès et al., 2017:p.8).

La prevalencia de la gota varía según el país y la etnia, siendo ésta más común con un 10% más en los aborígenes de Taiwán y Maoríes, con un porcentaje de 1-4% en Europa occidental y Norteamérica, mientras que, en África, Oriente Medio, Filipinas, Malasia y países de la antigua Unión Soviética se presenta con valores inferiores al 1% (Bardin et al., 2016:p.264). A nivel de Latinoamérica la evidencia de la gota se presenta con mayor frecuencia en hombres que en mujeres; en Ecuador no existen registros acerca de la prevalencia de dicha patología.

La artritis gotosa es tratada farmacológicamente con inhibidores de la xantina oxidasa, como son el alopurinol y el febuxostat, los cuales son considerados como de primera línea (Wilson y Saseen, 2016:p.2), ambos son medicamentos seguros y eficaces, sin embargo el 2% de la población que lo ha consumido presenta reacciones alérgicas (Bull y Scott, 1989:p.1247).

El trabajo de titulación que se desarrolla a continuación tiene como objetivo encontrar una respuesta a los problemas relacionados con la hiperuricemia y la gota, a través de la inhibición de la xantina oxidasa y la capacidad de captar radicales superóxido a partir de la fracción alcaloidal de *Psychotria poeppigiana*. La autografía por inmersión en agar fue la metodología empleada, ya que mediante esta técnica es posible obtener información de la actividad biológica que presentan los compuestos y cuáles son dichos compuestos (Marston, 2011,p.2678).

En el continente Occidental existen datos que indican tanto la prevalencia de la gota como de hiperuricemia mismas que van en aumento, registrando así que, el 20% presenta hiperuricemia y del 1-4% presenta gota (James, 2014:p.3), en Ecuador no existen datos estadísticos referentes a las patologías antes mencionadas.

La gran variedad de especies del género *Psychotria* que se localizan en Ecuador, presentan alcaloides de tipo indol, los cuales brindan un sin número de propiedades farmacológicas, así como también actividad antioxidante. Sin embargo, los alcaloides no son los únicos compuestos presentes, debido a esto se ha demostrado que los compuestos fenólicos pueden actuar como captadores de radicales libres, por lo que *Psychotria poeppigiana* podría dar resultados favorables y ser usado como terapia alternativa (Berger et al. 2016:p.146).

El Plan Nacional de Desarrollo Toda una Vida, indica que se debe: “Impulsar programas de investigación, formación, capacitación y actualización que respondan a las potencialidades y necesidades territoriales”(Secretaría Técnica Planifica Ecuador 2018), brindando así apertura para realizar estudios investigativos sobre el género *Psychotria* que presenta alrededor de 50 especies en nuestro país, siendo posible la obtención de metabolitos que posiblemente presenten actividades farmacológicas sobre diferentes patologías y en especial sobre la hiperuricemia y la gota (PUCE 2018).

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo General

Determinar del potencial inhibitorio de la fracción alcaloidal de *Psychotria poeppigiana* sobre xantina oxidasa y radical superóxido mediante autografía

Objetivos Específicos

- Realizar el control de calidad de la especie *Psychotria poeppigiana* y establecer su idoneidad para el estudio.
- Identificar los metabolitos secundarios de *Psychotria poeppigiana* cualitativamente, a través del tamizaje fitoquímico.
- Obtener el rendimiento alcaloidal de las hojas de *Psychotria poeppigiana* a través de extracción con solventes con empleo de variación de pH.
- Medir el Rf de las concentraciones del extracto alcaloidal de *Psychotria poeppigiana* del halo de inhibición de xantina oxidasa y radical superóxido a través del software GELANALYZER.
- Diferenciar inhibidores puros de xantina oxidasa de captadores de superóxido y agentes antioxidantes a través de la generación no enzimática de superóxido (NADH y Riboflavina) y el ensayo de DPPH·.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes

La población latinoamericana acude como primera opción al uso de la medicina ancestral, a través del uso de plantas medicinales para satisfacer las necesidades de atención primaria en salud (Gallegos-Zurita et al., 2016,p.208) Los extractos vegetales alrededor del mundo son ampliamente analizados gracias a la actividad biológica que presentan debido a su composición química (Montoya et al.,2003,p.74). La práctica terapéutica de plantas medicinales como sustituto a la terapia a través de fármacos viene desde la antigüedad y se debe en gran parte a la capacidad de aliviar y tratar distintas patologías(Gallegos Zurita 2016,p.328).

Las plantas generan de forma natural metabolitos secundarios como taninos, fenoles, glucósidos, alcaloides, terpenos, esteroides, los cuales son vitales para la supervivencia de la misma, gran cantidad de dichos metabolitos presentan actividad biológica para uso humano y animal (Sepulveda et al., 2003:p.360).

La familia *Rubiaceae* es la más grande del orden de las Getianales con un número aproximado de 650 géneros y alrededor de 13.000 especies, ésta familia se encuentra principalmente distribuida en zonas tropicales y subtropicales, presenta una amplia gama de compuestos como terpenos, flavonoides, antraquinonas, derivados fenólicos con especial producción de alcaloides de tipo indólicos (Porto et al., 2009:p.305)

La filogenética de la familia *Rubiaceae* se encuentra dividida en tres subfamilias *Rubioideae*, *Cinchonoideae* e *Ixoroideae*. Algunas especies presentan gran interés económico como es el caso de la *Coffea arabica* (caféina) (Aguilar.J., 2006 pág. 85), además de la importancia farmacéutica como es *Cinchona sp* (quina) de donde se obtienen varios alcaloides empleados primordialmente para tratar el paludismo (Borhidi et al., 2016:p.4).

El género *Psychotria* es el más abundante en especies dentro de la familia de las Rubiaceae, (Porto et al., 2009:p232), estudios desde 1974 han demostrado que las especies del género *Psychotria* son una fuente con gran potencial de alcaloides, demostrando que el 52% del total de los

metabolitos encontrados son alcaloides, donde el 82% son de tipo indólico ampliamente utilizados en medicina (de Carvalho et al., 2016:p.232).

Los alcaloides del género *Psychotria* provienen del aminoácido triptófano y son de tipo alcaloides monoterpénicos, es decir, indol no iridoide, presentan un anillo indol al cual se le atribuyen las propiedades farmacológicas de actuar como antihistamínico, antifúngico, anti-VIH, antiinflamatorio, anticonvulsivo, antihemorrágico, analgésico y antioxidante (Pfaffenbach y Gaich 2017:p.2).

La presencia de este tipo de alcaloides en diferentes especies vegetales ha demostrado que posee actividad inhibitoria sobre XO y capacidad captadora de radicales libres, (Coussette y Armenteros nedatováno 2005:p.3).Una investigación realizada a partir de la *Isatis costata* determinó que presentan alcaloides de tipo oxindol con actividad inhibitoria sobre XO, además de actuar como antifúngicos y antioxidante (Ahmad et al., 2010:p.1828).

Uno de los primeros estudios que se realizó sobre la inhibición de xantina oxidasa fue en la ciudad de Missouri en el año 2007, el método que se aplicó para la inhibición enzimática fue por espectrofotometría a partir de extractos alcohólicos en 14 especies de plantas de la familia de las Melastomataceae, las cuales presentaban compuestos de tipo flavonoides y polifenólicos (Garrido et al., 2013:p.33).

Las especies de *Psychotria* presentan actividad antiinflamatoria, antioxidante, además de presentar efecto analgésico, debido a los alcaloides que se encuentran en hojas y flores. Los alcaloides que presentan son de tipo indólicos, los cuales inhiben la acción de ciertas enzimas, además se determinó que presentan una acción muy parecida a los opioides dicho estudio se realizó específicamente en *Psychotria colorata* probado como analgésico local (Calixto et al., 2016:p.1363).

Estudios realizados a partir de *Psychotria poeppogiana* determinaron la actividad hipotensora y antimicrobiana específicamente sobre la *Salmonella tiphymurim*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, acción antiparasitaria, antihemorrágica, su uso es amplio desde afecciones cardíacas, tos, asma y bronquitis, además de ser un potente analgésico en artritis y como vasorrelajante (Barajas 2014:p.13). Los indígenas de Centroamérica, Ecuador, Colombia, Brasil y Argentina emplean esta planta debido a las propiedades farmacológicas que se le atribuyen, mismas que se debe a la presencia de los alcaloides que se encuentran como son la emetina, DMT(dimetilriptamina) éste último en menor porcentaje, además de los compuestos fenólicos que posee.(Barajas 2014:p.16)

1.2. Familia Rubiaceae

1.2.1. Características

Considerando la amplia diversidad que presenta la familia Rubiaceae se cataloga como la cuarta más grande de las fanerógamas, cuenta con 630 géneros y 10.200 especies (Borhidi y Barreto Valdés 2002:p.237). Una característica muy peculiar de las plantas de ésta familia es que pueden presentar varios tipos de pubescencia en diversos órganos, las hojas son opuestas o verticiladas, sus estípulas interpeciolares o intrapeciolares, presentan inflorescencias terminales o axilares con una sola flor, la cual frecuentemente es bisexual, pero en ciertos casos es zigomorfas (Rincón, 2011:p.7)

La familia Rubiaceae se divide en tres subfamilias: Rubioideae, Cinchonoideae e Ixoroideae (Terán, 2006:p.18). El café es el producto con mayor salida económica de las Rubiaceae, pertenece al género *Coffea*, con aproximadamente 100 especies nativas del continente africano, especialmente de las islas de Madagascar e India (Smith et al., 2004:p.53), además de ser una fuente económica es empleado en otras áreas gracias a los compuestos naturales que posee, se emplea como alucinógeno, veneno, etc (Smith et al., 2004:p.48).

Muchos géneros de Cinchonoideae son fuentes de quina, ésta se consideraba el único remedio para la malaria (Cronquist ,1981:p.136). La familia de Rubiaceae presenta tres tipos de alcaloides estructurales de tipo indólicos, quinólicos (quina) e isoquinolíticos (emetina) (Terán ,2006:p.20).

1.2.2. Distribución mundial

La familia de las Rubiáceas ocupa el cuarto lugar de las familias de plantas en el mundo, cuenta con un total de 650 géneros y 13000 especies aproximadamente (Smith et al., 2004:p.54). El género *Psychotria* es el más grande, con alrededor de 1700 especies a nivel mundial (Smith et al., 2004:p.54).

Su distribución es cosmopolita y con predominio pantropical, un tercio del total de los géneros se encuentran en climas neotropicales, en el continente americano se localizan en las zonas con clima tropical con alrededor de 5000 especies (Terán ,2006:p.20).

En los países de Colombia, Venezuela, Perú, Bolivia, Brasil y Ecuador se localizan diferentes plantas que pertenecen a las Rubiáceas, teniendo importancia económica, ornamental y medicinal (Martins y Nunez ,2015:p.13424).En Ecuador se encuentran aproximadamente 4500 especies, de las cuales 3028 están localizadas en la región Sierra con una altitud no mayor a 2000 msnm, las especies restantes de Rubiaceae están presenten en la región amazónica, debido a las

características de sus bosques éstas crecen hasta formar pequeños arbustos y desarrollan sus frutos, muchas de éstas especies pueden causar parálisis en el ganado, ya que son venenosas, además cabe resaltar que alrededor de 54 especies son endémicas de Ecuador (Valois-Cuesta et al., 2016:p.1276).

1.3. Género *Psychotria*

1.3.1. Características

El género *Psychotria* pertenece a la familia *Rubiaceae* y a su vez a la subfamilia *Rubioideae*, es el género más grande con mayor especímenes a nivel mundial, cuenta con alrededor de 2000 especies, se le atribuyen tres subgéneros en función de sus características morfológicas y distribución geográfica siendo estos: *Psychotria* (pantropical), *HeteroPsychotria* (neotropical), *Tetramerae* (África y Madagascar) (Darwin ,1976:p.598).

Se caracteriza principalmente por presentar un ovario inferior con un solo óvulo, corola recta blanca o verde, sus frutos son carnosos y con semillas en número de 2 a 5 y de apariencia lisa (Zappi ,2000). Al obtener algunos extractos del género *Psychotria* se identificaron ciertos metabolitos secundarios, tales como, alcaloides, fenoles y demás sustancias bioactivas, propiedad que le otorgó el nombre de género caliente, debido a la capacidad citotóxica que presentaron los extractos alcaloidales así como sus respectivas fracciones (Margallo, Delprete y Groppo ,2012:p.28).

1.3.2. Etnobotánica

Las especies de *Psychotria* son utilizadas en medicina tradicional en infusión o decocción, para el tratamiento de un sin número de enfermedades como: problemas de reproducción, afecciones de las vías respiratorias y molestias gastrointestinales, además se emplea de manera externa como ungüentos para tratar afecciones de la piel y dolores articulares (Frescura et al., 2013:p.27).

En México *P. papantlensis* se utiliza para tratar enfermedades inflamatorias, en Perú específicamente en la región amazónica se utiliza *P. pilosa*, *P. poeppigiana*, *P. carthagenensis* con distintos propósitos medicinales, es así que se emplean para procesos eméticos, hemorragias uterinas, diarrea, fiebre y sedantes (Silva et al., 2017:p.169).

En Ecuador las especies de *Psychotria* se emplean en el ámbito medicinal, alimentario y ornamental. Los frutos de *P. trichocephala* son comestibles, *P. poeppigiana*, *P. viridis*, se emplean

en la preparación de bebidas alucinógenas, además *P. poeppigiana* su flor se emplea para decorar casas y tratar afecciones de la piel y mucosas (De La Torre et al., 2008:p.551-555).

Las hojas, raíces, corteza e incluso flores de las diferentes especies de *Psychotria* se emplean para tratar distintas enfermedades, esto comúnmente sucede en los poblados alejados, donde los habitantes de zonas endémicas, utilizan plantas como alternativa farmacológica, las distintas partes de las plantas presentan propiedades antibióticas, antifúngicas, antivirales, antiinflamatorias, antiparasitarias e incluso anticancerígenas (Madureira ,2008:p.128).

1.3.3. Alcaloides de Psychotria

Taxonómicamente este género es muy complejo, esto se debe a la falta de características morfológicas, no obstante la presencia de alcaloides indólicos es un dato relevante para la quimiotaxonomía; las especies de *Psychotria* sobresalen de otras por la producción de moléculas activas entre las que se pueden destacar benzoquinonas, alcaloides, pigmentos péptidos, naftaquinonas (Porto et al., 2009:p.31). Aproximadamente el 52% del total de los compuestos que poseen las especies de *Psychotria* corresponde a alcaloides de tipo indol (de Carvalho et al., 2016:p.232). La emetina es el compuesto mayormente conocido y que fue aislado a partir de una especie de *Psychotria*.

1.3.3.1. Alcaloides diméricos y poliindol

La psicotridina se obtuvo a partir de *P. oleoides*, *P. colorata*, *P. beccarioides*, que presentan como principal característica en su estructura la N-metiltriptamina (de Carvalho et al., 2016:p.232-233).

1.3.3.2. Alcaloides indol monoterpénicos (MIAs)

Estos alcaloides son biosintetizados a partir de la unión del triptófano y la secologanina, siendo este último un terpeno iridoide, a estos alcaloides se les atribuyen actividades biológicas de gran importancia, ya que pueden actuar como agentes antipalúdicos, anticancerígenos y antiarrítmicos. A partir de *P. leiocarpa* se obtuvo el N-β-D-glucopiranosil vincosamida, siendo este el primer alcaloide MIA.(Yang et al., 2016:p.1-3)

Las propiedades farmacológicas que se hacen mención a partir de los anillos de tipo indol son principalmente antivirales, anti-VIH, hipotensores y nutritivos (Singh y Singh, 2017:p.9).

1.3.4. Actividad Biológica

1.2.4.1 Antiviral

La emetina actúa como un compuesto antiviral, se obtuvo a partir de la *P. ipecacuana*, se emplea como agente antiviral frente al VIH o virus de la inmunodeficiencia humana, puesto que inhibe la síntesis proteica, del ADN y ARN ribosomal y mitocondrial (Botero et al., 2015:p.182), estudios demuestran que especies como *P. serpens* poseen actividad inhibitoria sobre el virus del herpes simple tipo I (Zhou et al., 2018:p.24).

1.3.4.1. Analgésica

Por muchos años se estudió la *P. colorata* descubriendo que sus hojas presentan actividad analgésica, especialmente para los dolores articulares, y su acción es similar a los opioides, fue posible comprobar a partir de estudios realizados en animales de laboratorio, a partir de ahí se da fe del uso ancestral de esta planta, especialmente por los indígenas de la región amazónica del Brasil (Elisabetsky et al., 1995:p.81)

1.3.4.2. Antioxidante

P. umbellata presenta actividad antioxidante y antimutagénica, se determinó a través del ensayo de hipoxantina/xantina oxidasa en presencia del radical hidroxilo, mostrando destacado efecto protector ante el estrés oxidativo sobre sepas de *Saccharomyces cerevisiae* (Fragoso et al., 2008:p.560).

1.4. *Psychotria poeppigiana*

1.4.1. Descripción botánica

Psychotria poeppigiana conocida comúnmente como tabaco de chupaflor, flor de labios de mujer, beso de la novia y sombrerito del diablo, es un arbusto de aproximadamente tres metros de altura, las hojas son simples y opuestas, con forma elíptica o levemente acuminadas, la base es aguda o corneada, presenta venas secundarias de seis a doce pares, la longitud de los pecíolos es de 0,4 a 3 cm, sus estípulas están unidas al tallo por medio de una vaina con dentadura triangular. Las inflorescencias son terminales, capitadas y con cabezuelas globosas. La corola es tubular y de color amarillo, presenta cinco estambres y un solo ovario ínfero. La semilla o fruto es de forma elipsoidal de color azul y presenta no más de dos semillas (Barajas et al., 2014:p.5).



Figura 1-1: *Psychotria poeppigiana*

Fuente: (La selva florula digital, 2013)

1.4.2. Distribución geográfica

Psychotria poeppigiana es un arbusto que vive en climas húmedos- tropicales, su distribución abarca desde Centroamérica hasta América del Sur, localizándose en la región amazónica de los países de Brasil, Perú, Colombia, Ecuador, Venezuela y con menor presencia en Bolivia (Tropicos,2009:p.1).

En Ecuador se encuentra en las provincias de Napo, Pastaza, Sucumbíos Orellana y Morona Santiago, como es característica propia de la especie únicamente vive en las zonas climáticas donde la altitud no supera los 900 msnm (Tropicos, 2009:p.1)

1.4.3. Usos tradicionales

Es utilizada ampliamente en el departamento del Putumayo-Colombia, su raíz a través del proceso de decocción se emplea para tratar afecciones pulmonares, presenta dos usos, uno interno que consiste en beberla y otro externo donde se aplica únicamente sobre el pecho a manera de masajes, como analgésico para calmar el dolor de oído usando el agua que se deposita en la corola de la flor, en casos de demencia se emplea como sedante a través de una infusión de las hojas y las flores jóvenes de la planta, además se usa para la fiebre, sarampión, para detener hemorragias uterinas, vómito, diarrea y como tónico (Barajas et al., 2014:p.6).

1.4.4. Composición química

Presenta principalmente fitoesteroles, una pequeña cantidad de dimetilriptamina, además en las hojas de *Psychotria poeppigiana* se identificó el 4,5,7,7a-tetrahidro4,4,7a-trimetil-2(6H)benzofuranona, 2-feniltridecano, estigmast-5-en-3 β -ol, estigmast-4-en-3-ona, elemicina, 4-vinil-2-metoxifenol, vainillina, ácido palmítico y escopoletina (Barajas et al., 2014:p.13).

1.5. Xantina oxidasa (XO)

1.5.1. Características

La XO es una enzima que pertenece al grupo de las molibdoflavoproteínas, cataliza la reacción de oxidación de las purinas, xantina e hipoxantina, generando peróxido de hidrógeno y ácido úrico (Martínez ,2000:p.58).

Se conoce como enzima de Schardinger o a su vez como hipoxantina oxidasa, se encuentra presente en diferentes organismos, desde el más sencillo como son las bacterias hasta organismos complejos como el ser humano, en estos últimos presenta un peso molecular aproximado de 300kDa, posee dos subunidades de 150kDa cada una (Kapoor y Saxena ,2016:p.7).

En los seres humanos se encuentra principalmente en el hígado, riñones, en las células del sistema inmune, intestino y corazón, presenta un rango de pH funcional de 6 a 9 el rango de temperatura aproximado es de 30 a 50 °C (Battelli et al., 1999:p.148).

1.5.2. Estructura

La XO está formada por $\alpha 2$ homodímeros, de la familia de proteínas del molibdeno, cada monómero está presente en dominios distintos, el prototipo que sigue la XO es la xantina óxidoreductasa (XOR), presenta tres formas o dominios con gran potencial redox, el primero constituido por el cofactor molibdeno (MoCo), el siguiente presenta el cofactor flavín adenín dinucleótido (FAD), y por último se encuentra el dominio que presenta dos centro azufre y hierro (Mendoza et al.,2005:p.3).

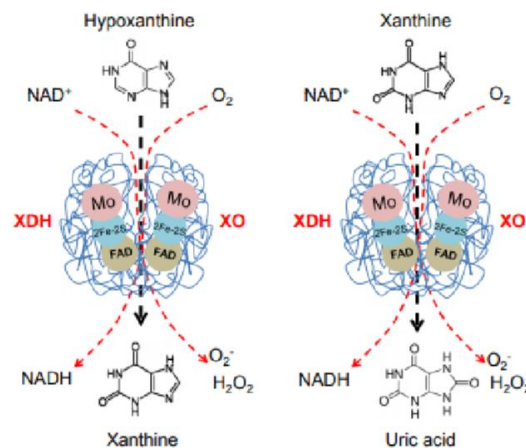


Figura 2-1: Estructura de la xantina óxidoreductasa

Fuente: (Harrison, 2002)

1.5.3. Mecanismo de acción

La XO metaboliza las purinas, cataliza la hipoxantina a xantina y da como producto ácido úrico y la reducción del oxígeno molecular (O₂), esto tiene lugar en el centro de los nucléotidos, generando a su vez radical superóxido y peróxido de hidrógeno (Olson et al., 1974:p.4368). Los ácidos nucleicos sufren hidrólisis en el organismo y como resultado de esto generan mononucleótidos, esto se debe a la presencia de enzimas endógenas y exógenas que rompen los enlaces y como parte del proceso se degradan a nucleósidos, este paso es catalizado por la enzima 5' nucleotidasa, liberando tanto guanósina (GMP) como adenosina (AMP), las dos últimas siguen diferentes rutas de metabolización (Nishino et al., 2005:p.24889). La AMP a través de una desaminación pierde el grupo amino de su estructura y forma iosina, seguido a esto actúa la nucleotidasa dando HX, convirtiendo por medio de la misma enzima a la guanósina en guanina (Ichimori et al., 1999:p.7764). La HX sufre una oxidación por medio de la XO, formando xantina, mientras que la guanina a través de la acción de la guanina desaminasa genera xantina, ésta última se oxida de manera

inmediata gracias a la xantina oxidasa y da como resultado final ácido úrico (Maiuolo et al., 2016:p.8). Durante la oxidación de las purinas juega un papel importante el molibdeno, ya que éste recibe electrones (e^-), quedando reducido a Mo^{4+} , dando lugar al complejo $LMo(IV)-O-(SH)(OP)$, al producirse la transferencia de electrones desde el centro del molibdeno hacia la parte externa genera que una molécula de agua (H_2O) empuje el complejo formado enzima-sustrato dando lugar al ligando $Mo-OH$, al mismo tiempo que ocurre una semirreacción de oxidación pasando los electrones del FAD al NAD^+ para dar paso a la forma deshidrogenasa o conocida como O_2 para la forma oxidada, por último la HX sufre una hidroxilación en el carbono dos, dando como resultado la xantina, aquí se adiciona un grupo hidroxilo en el carbono ocho formado así el ácido úrico (Hille et al., 2014:p.3968).

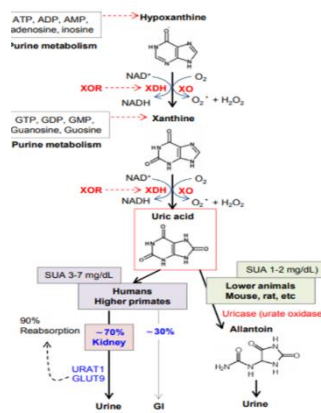


Figura 3-1: Producción y eliminación de ácido úrico

Fuente: (Rizzi y Schindelin ,2002)

1.5.4. Papel fisiológico de la XO

La implicación de la XO en diversos procesos fisiopatológicos se debe a la capacidad de producir radicales libres de oxígeno así como de nitrógeno (Rus ,2005). En condiciones de hipoxia la XO se encarga de la reducción del gliceril trinitrato (GTN), está implicada en la disfuncionalidad endotelial inhibiendo la vasorelajación (Dawson y Walters, 2006:p.638).

1.5.5. Distribución de la XO

En función del tejido donde se localice la enzima su actividad va a variar, siendo así el hígado el lugar donde se encuentra en mayor cantidad, seguido por la porción proximal del intestino delgado, el duodeno y el yeyuno, se encuentra una pequeña cantidad de XO en el cerebro y en el

corazón, cantidad mínima para implicar su actividad con el daño celular durante una isquemia, reperfusión cardíaca y algunas enfermedades neuronales (Torres y García,2002).

1.6. Hiperuricemia

Se conoce como hiperuricemia (HU) a un aumento en los niveles de ácido úrico en sangre, dichos niveles no deben ser superiores a 5,7mg/dL para mujeres y 7,0mg/dL en hombres (Perez y Lioté, 2007:p.1326). Al existir un desbalance tanto en la producción como en la eliminación de AU la HU se presenta formando precipitados de AU a nivel de las articulaciones principalmente (Perez y Lioté ,2007:p.1327).

1.6.1. Epidemiología

A nivel mundial la prevalencia de la enfermedad conocida como la gota se presenta entre el 0,1-10%, a través de estudios se ha podido identificar en ciertos países del continente Europeo y América del Norte que los datos van a variar del 1-4%, en relación al género, los hombres presentan mayor prevalencia de dicha enfermedad siendo así que por cada mujer cuatro varones contraen hiperuricemia y alrededor del 10% de los individuos desarrollan gota (Saag y Choi, 2006:p.101).

1.6.2. Etiología

Al existir aumento en el AUS (ácido úrico sérico), se desarrollará la gota, ya que ésta es la condición indispensable para la aparición de dicha patología, además existen otras causas como es el factor genético, al cual se le atribuye el 90% de los casos de gota, sin dejar de mencionar que la alteración del metabolismo de las purinas es el indicio fundamental para generar gota en el ser humano (Pascual et al., 1999:p.759).

1.6.3. Factores de riesgo

La hiperuricemia es un trastorno común y a su vez complejo, que va a ser causado por un sin número de factores de riesgo (Wallace et al., 2004:p.7):

- **Edad y sexo:** La probabilidad de desarrollar HU es tres veces mayor en hombres que en mujeres, sin embargo los hombres de raza negra son más afectados que los de raza blanca, la incidencia de la enfermedad va aumentar con la edad tanto en hombres como en mujeres, cabe mencionar que en las mujeres posmenopáusicas existe un aumento significativo esto se debe a la disminución de estrógenos.
- **Alcohol y dieta:** Tanto la dieta como el consumo de alcohol están estrechamente relacionados con el desarrollo de HU, ya que el consumo de carnes y mariscos los cuales son ricos en purinas aumentan el riesgo de padecer HU, con respecto al alcohol una de las bebidas de mayor consumo es la cerveza siendo ésta rica en guanosina genera mayor riesgo.

1.6.4. Tratamiento

El principal tratamiento para la hiperuricemia así como del ácido úrico es la reducción de urato a largo plazo, las principales drogas que se emplean son agentes uricostáticos principalmente el alopurinol y febuxostat, los cuales actúan inhibiendo la acción de la XO y a su vez reducen la producción de AU, además se emplean agentes que facilitan la excreción urinaria de ácido úrico como el probenecid (Lee et al., 2009:p.903).

1.7. Inhibidores de XO

Al existir una elevación en la concentración de AU, no es más que el resultado de una excesiva actividad de XO y de estrés oxidativo, siendo así la principal causa para los diferentes estadios de la enfermedad, los inhibidores de xantina oxidasa (XOI), son indispensables, puesto que reducen los niveles de ácido úrico en sangre y a su vez el estrés oxidativo generado (Bull y Scott, 1989:p.1).

1.7.1. Alopurinol

El alopurinol fue descubierto en 1940 y es el primer fármaco inhibidor de la XO, fue aprobado para el tratamiento de artritis gotosa por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) en 1966 (Halevy et al., 2008:p.25).

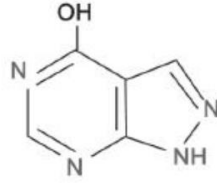


Figura 4-1: Estructura química del alopurinol

Fuente: (Feig et al., 2008)

1.7.1.1. Mecanismo de acción

El alopurinol reduce las concentraciones de AU a partir de la inhibición de XO, el oxipurinol es la forma activa del alopurinol el cual se metaboliza en el hígado, disminuyendo así la conversión de hipoxantina y xantina en ácido úrico, generando un aumento de xantina e hipoxantina sérica, provocando inhibición en la síntesis de purinas y a su vez disminución en las concentraciones de ácido úrico sérico (Pérez et al., 2014:p.1).

1.7.2. Febuxostat

En febrero del 2009 la FDA aprobó el febuxostat como fármaco para el tratamiento de la gota en dosis de 40-80mg/día, mientras tanto la agencia europea de medicamentos aprobó el medicamento pero a dosis de 80y|20mg, se considera el uso del febuxostat para pacientes con intolerancia al alopurinol y para aquellos con insuficiencia renal (Love et al., 2010:p.596).

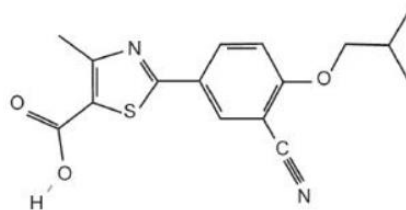


Figura 5-1: Estructura química del febuxostat

Fuente: (Bisht y Bist, 2011)

1.7.2.1. Mecanismo de acción

Es un potente inhibidor de la XO, reduciendo la concentración de uratos, no posee un análogo como en el caso del oxipurinol(allopurinol), el febuxostat inhibe únicamente a la XO no a las demás enzimas presentes en las rutas de metabolización tanto de la spurinas como de las

pirimidinas y de esta manera evita la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Schumacher et al., 2008:p.1540).

1.8. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo hace referencia al desequilibrio que existe entre la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y radicales libres (RL) con la eliminación de las mismas, siendo las principales ROS el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (HO^{\cdot}) (Corrales y Ariza, 2012:p.1).

El daño celular que genera afecta a lípidos, proteínas, y ácidos nucleicos, la producción de radicales libres es excesiva e inevitable, ya que se generan a partir de los procesos bioquímicos que tienen lugar en el organismo, además de ser subproductos de la contaminación ambiental a la cual estamos expuestos, dando como resultado el desequilibrio entre los agentes oxidantes y antioxidantes (Rodríguez Perón et al., 2001:p.4).

1.8.1. Tipos de estrés oxidativo según su origen

1.8.1.1. Estrés oxidativo exógeno

Dentro de las fuentes exógenas para la generación de radicales libres se encuentran principalmente ciertos fármacos antineoplásicos como la adriamicina, bleomicina y algunos antibióticos que requieren la presencia de un metal para ejercer su acción, debido a esta condición es que poseen la capacidad de generar ROS, otra fuente importante es el humo de tabaco, pesticidas, solventes, hidrocarburos aromáticos, por último la radiación que absorbe el organismo y generan radicales libres (Lobo et al., 2010:p.120).

1.8.1.2. Estrés oxidativo fuentes endógenas

La presencia de radicales se da también por procesos naturales que tienen lugar dentro del organismo, como la respiración celular, la cadena de transporte de electrones, procesos inflamatorios, cuando existen episodios de actividad física excesiva, y en la respuesta inmune, esto se da debido a que en organismos sanos las mitocondrias son la principal fuente de radicales

libres, ya que son responsables del 90% del consumo del oxígeno existente en el organismo (Turrens ,1994:p.9).

1.8.2. Antioxidantes

El organismo de los seres humanos posee varios sistemas de defensa antioxidante de naturaleza enzimática y no enzimática conocidos como antioxidantes endógenos y otro sistema antioxidante exógeno, el cual se adquiere principalmente de la dieta (Gutiérrez a R, 2002:p.4).

Estos sistemas pueden actuar de la siguiente manera: previniendo la formación de ROS, atrapando los metabolitos reactivos y convirtiéndolos en especies menos reactivas, ayudando a la reparación del daño celular causado por estas especies, y por último generando un espacio adecuado para la acción de los antioxidantes (Gutiérrez a R, 2002:p.5).

1.8.2.1. Antioxidantes endógenos enzimáticos

Las células eucariotas poseen enzimas que son capaces de detoxificar la célula, ya que son enzimas antioxidantes, las que juegan un papel importante son la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), y la glutatión peroxidasa (GHS-Px) (Naqui et al., 1986:p.141).

1.8.2.2. Antioxidantes endógenos no enzimáticos

Los oxidantes fisiológicos y los tioles (-SH) al actuar de manera conjunta poseen la capacidad de mantener la homeostasis del potencial redox, al mismo tiempo eliminan el radical hidroxilo y el peróxido de hidrógeno; el ácido úrico ayuda a la autooxidación de la hemoglobina (Hb) eliminando radicales libres (Zini et al., 1993:p.184).

1.8.2.3. Antioxidantes exógenos

Dentro de los antioxidantes exógenos tenemos a las vitaminas C y E, betacarotenos, licopenos y flavonoides los cuales se pueden incorporar al organismo a través de la dieta.(Wayner et al., 1985:p.35).

La vitamina C o ácido ascórbico es hidrosoluble, elimina radicales libres, y ayuda a la regeneración de la capacidad antioxidante de la vitamina E, posee un efecto anticancerígeno frente al humo del tabaco (Greenberg y Sporn, 1996:p.1189-1190). Mientras tanto la vitamina E es el principal antioxidante gracias a la presencia del α tocoferol que posee en su estructura, por ello se le atribuye la defensa del organismo frente al daño celular asociado a radicales libres, además de las vitaminas los oligoelementos como el cinc (Zn), cobre (Cu), manganeso (Mn), selenio (Se), y hierro (Fe), contribuyen a la acción antioxidante, ya que estos están presentes en las estructuras de las vitaminas (García y E, 2002:p.180).

1.8.3. Relación con otras enfermedades

Las especies reactivas de oxígeno como el peróxido de hidrógeno, radical superóxido y oxígeno están asociados con diferentes patologías, ya que en algunas son la principal causa para que se desarrollen, es así el caso del ácido úrico e hiperuricemia, estrés oxidativo, siendo este último precursor de enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson, Alzheimer, reperusión en cerebro y corazón, arterosclerosis, envejecimiento prematuro, cáncer, artritis (Oxilia, 2014:p.23-27).

1.9. Autografía

La autografía es un método basado en la separación de compuestos y detección de actividades como antioxidantes, antifúngicas, antibacteriales y enzimáticas, empleando cromatografía en capa fina (TLC), cromatografía de capa fina de alto rendimiento (HPLC), cromatografía laminar de rendimiento óptimo (OPLC) y electrocromatografía capilar (CEC) (Dewanjee et al., 2015:p.75).

La técnica del TLC combina dos actividades la separación cromatográfica así como también la determinación de la actividad in situ ayudando a la localización y aislamiento de los componentes que forman parte de la mezcla (Ramallo et al., 2006:p.15-16).

1.9.1. Autografía de contacto

Se emplea una placa de TLC donde se siembra la mezcla a analizar, y dicha placa es colocada sobre el agar que fue previamente gelificado y funcionalizado, durante algunos minutos y hasta horas de tal manera que se asegura la transferencia por difusión de los compuestos presentes en

la placa. Los compuestos que presentan actividad entran en contacto con el agar y es ahí donde están las zonas de inhibición (Müller et al., 2004:p.207-211).

1.9.2. Autografía directa

Este método se basa en la utilización de una placa desarrollada de TLC la cual se sumerge en una suspensión de reacción, las zonas de inhibición son los lugares donde existe actividad biológica (Choma y Grzelak, 2010:p.2686).

1.9.3. Autografía por inmersión

Es la combinación de dos métodos tanto de la autografía de contacto como de la autografía directa, pues permite la transferencia de compuestos desde la placa hacia el agar y a su vez la capa de agar va a permanecer en la superficie de la placa de TLC, aquí la placa de TLC es cubierta con agar simple, se solidifica y se procede a sembrar los compuesto o microorganismos, por último se deja incubar (Choma y Grzelak, 2010:p.2686).

1.10. Determinación de Inhibidores de Xantina Oxidasa

1.10.1. Sistema xantina/xantina oxidasa/ NBT

El empleo de este método consiste en aplicar una solución que contenga la enzima xantina oxidasa y una sal de tetrazolio (NBT), la oxidación de la xantina genera radicales superóxido los cuales reducen el NBT cambiando su color de amarillo pálido a formazán púrpura. Las sustancias presentes son capaces de inhibir , a su vez evitan la generación de O_2^- , por ende la producción de formazán (Ramallo et al., 2006:p.16).

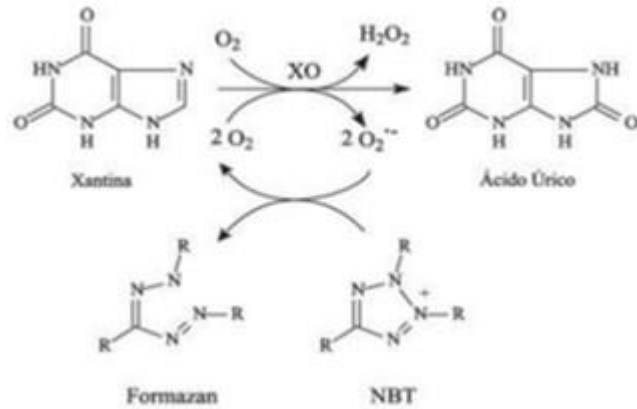


Figura 6-1: Mecanismo de acción del sistema xantina/xantina oxidasa/NBT.

Fuente: (Alves et al., 2010)

1.11. Determinación de radicales libres

1.11.1. Método DPPH·

Fue desarrollado en 1958 por Marsden Blois se fundamenta en el empleo del radical libre 2,2-diphenyl-1-picrilhidracilo (DPPH·) y evaluar la capacidad antioxidante de un extracto o compuesto para captar radicales de DPPH· (Alves et al., 2010:p.2204), en forma libre presenta absorbancia de 515-520 nm de color violeta fuerte y aceptable estabilidad (Kedare y Singh, 2011:p.414). El átomo de nitrógeno del radical DPPH· tiene un electrón impar, dicho átomo se reduce al recibir un átomo de hidrógeno de los antioxidantes formando el DPPH-H en su forma reducida, generando hidracina, produciendo aumento en la absorbancia y cambio de color de violeta a amarillo pálido debido a la presencia de grupos pícricos residuales (Oliveira, 2015:p.36-44).

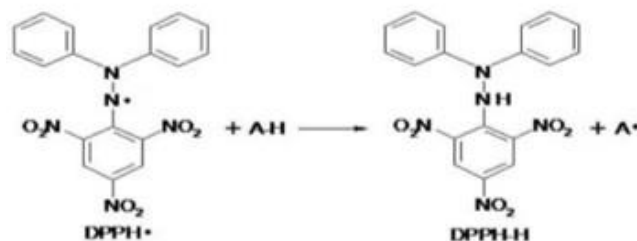


Figura 7-1: Mecanismo de acción de DPPH· con transferencia de un átomo de hidrógeno

Fuente: (Oliveira, 2015)

1.11.2. Sistema Riboflavina/Luz/NBT

Fue desarrollado en 1971 por Beuchamp y Fridovich, con la finalidad de determinar de manera indirecta la acción de la enzima superóxido dismutasa (SOD), basándose en la capacidad de inhibición de dicha enzima sobre las reacciones que son impulsadas por aniones superóxidos, no obstante la verdadera aplicación está encaminada a la búsqueda de sustancias que captan O_2^- a partir de diferentes extractos vegetales (Piacham et al., 2003:p.1254).

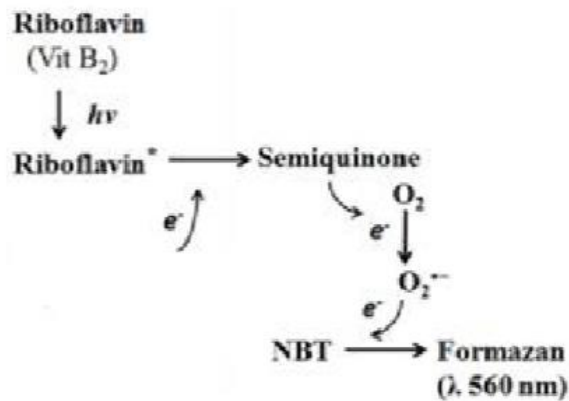


Figura 8-1: Reducción de NBT por fotólisis de B₂

Fuente: (Piacham et al., 2003)

El fundamento de este ensayo consiste en la reducción de las flavinas como la riboflavina las cuales son capaces de generar radicales superóxidos que a su vez son capaces de reducir el NBT, dando como resultado la formación de formazán azul, ocurre como consecuencia de la excitación del NBT cuando se da la absorción de un fotón que procede de la fotólisis de la riboflavina, dando lugar al radical de semiquinona que reacciona con el oxígeno y genera O_2^- , el cual reduce el NBT y da como resultado final la producción de formazán (Piacham et al., 2003:p.1254).

1.11.3. Sistema NADH/Metosulfato de Fenazina (PMS)/NBT

Este sistema se encarga de evaluar la capacidad de captación de radicales superóxido, se presenta en dos etapas: una está a cargo del PMS donde se da la oxidación del NADH y la otra donde se da una reducción del NBT por transferencia de electrones procedentes del anión superóxido para la formación de formazán púrpura que presenta una absorbancia de 570nm, cuando existe el consumo de O_2^- la absorbancia se reduce a 560nm (Rojano et al., 2012:p.410).

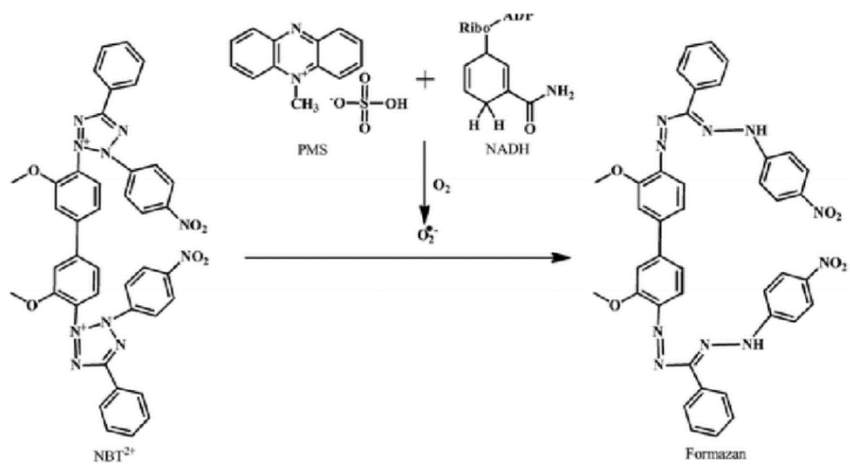


Figura 9-1: Mecanismo de reducción de NBT en el sistema NADH/PMS

Fuente: (Rojano et al., 2012)

CAPITULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Lugar de la investigación

El estudio tuvo lugar en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2. Recolección de la materia vegetal

La recolección de las hojas de *Psychotria poeppigiana* se llevó a cabo en la Provincia de Sucumbíos, ciudad Lago Agrio, parroquia Dureno en el km 21 en la propiedad “TRES HERMANAS”, perteneciente al señor Mario Pazos, en el mes de Mayo del 2019 aproximadamente a las 15H00, se realizó la recolección durante dicho mes, debido a que en este periodo florece lo que facilita su reconocimiento.

Los trámites legales se realizaron días antes de la recolección de la especie, obteniéndose la Guía de Movilización de Especímenes de Vida Silvestre N° MAE-DPAS-FLO-2019-066, en calidad de Investigación dentro del Convenio Marco de Acceso a Recursos Genéticos MAE-DNB-CM-2018-0086 denominado “ESTUDIO DE LA BIODIVERSIDAD EN EL ECUADOR, ECOLOGÍA, CONSERVACIÓN Y SU USO POTENCIAL Y SOSTENIBLE”.

2.3. Identificación botánica

La identificación de la especie vegetal estuvo a cargo del Ingeniero Jorge Caranqui, botánico del herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.4. Equipos, materiales y reactivos

2.4.1. Equipos

Tabla 1-2: Equipos empleados durante el desarrollo del presente trabajo de investigación.

PROCEDIMIENTO	EQUIPO
Acondicionamiento del material vegetal	Estufa de convección natural Molino Arthur. H. Thomas Balanza de precisión HDM
Ensayos para el control de calidad	Estufa Memmert SNB400 Reverbero Mufla Balanza analítica HDM
Tamizaje fitoquímico	Sorbona
Obtención del extracto alcaloidal	Sonicador Rotavapor Heidolph pH-metro
Autografía	Termoagitador magnético THERMO Micropipeta multicanal Centrífuga Agitador Vortex Termómetro digital Cámara UV Lámpara fluorescente 20W Pipeta automática Thermo Scientific Software GEL ANALYZER
Almacenamiento de reactivos	Refrigeradora Congelador

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2020

2.4.2. Materiales

Tabla 2-2: Materiales empleados en cada uno de los procedimientos de la presente investigación

PROCEDIMIENTO	MATERIAL
Control de calidad	Crisoles de porcelana Pinza metálica para crisol Pipeta graduada de 10mL Papel filtro Embudo Desecador
Tamizaje fitoquímico	Frascos ámbar de 500mL Tubos de ensayo Gradilla para tubos Pipetas Pasteur Pipeta graduada de 10mL
Obtención del extracto alcaloidal	Frasco de vidrio de 1000mL Embudo Papel filtro Balón de destilación boca 29/32 Vaso de precipitación de 500mL
Autografía	Matraz de Erlenmeyer 50mL Puntas para micropipeta Placas TLC Silicagel Capilares

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2020

2.4.3. Reactivos

Tabla 3-2: Reactivos empleados en cada uno de los ensayos realizados

ENSAYOS	REACTIVOS
Cenizas solubles en agua	Agua destilada
Cenizas insolubles en HCl	Ácido clorhídrico al 10% Agua destilada Ácido Nítrico Nitrato de plata al 0,1mol/L
Extracto etéreo	Éter dietílico
Extracto alcohólico	Etanol al 96%
Extracto acuoso	Agua destilada
Tamizaje fitoquímico para Alcaloides	Mayer Dragendorff Wagner
Tamizaje fitoquímico Antocianinas	Alcohol amílico Ácido clorhídrico concentrado
Tamizaje fitoquímico Terpenos	Liebermann-Buchard
Tamizaje fitoquímico Taninos y fenoles	FeCl ₃
Tamizaje fitoquímico Flavonoides	Shinoda
Tamizaje fitoquímico Quinonas	Borntrager
Tamizaje fitoquímico Aceites y Grasas	Sudán III solución acuosa Sudán IV 5% solución acuosa
Tamizaje fitoquímico Lactonas y cumarinas	Baljet
Tamizaje fitoquímico Catequinas	Carbonato de sodio
Tamizaje fitoquímico Azúcares reductores	Fehling
Tamizaje fitoquímico Resinas	Agua destilada
Tamizaje fitoquímico Aminas	Ninhidrina
Obtención del extracto alcaloidal	Metanol Ácido sulfúrico al 2% Hidróxido de amonio Acetato de etilo al 25% Goma arábiga

continua

continua

	<p>Éter de petróleo</p> <p>Sulfato de sodio anhidro</p>
Autografía método DPPH	<p>Agar 5mg/mL</p> <p>Solución DPPH</p> <p>Ácido ascórbico(solución estándar)</p>
Autografía método Riboflavina/Luz/NBT	<p>EDTA</p> <p>NBT solución</p> <p>Riboflavina 1,25mg/mL</p> <p>Agar 5mg/mL</p> <p>Fosfato monopotásico</p> <p>Fosfato dipotásico</p> <p>Agua bidestilada</p> <p>Taxifolina (solución estándar)</p>
Autografía método NADH/PMS/NBT	<p>EDTA</p> <p>NBT solución</p> <p>NADH solución</p> <p>PMS</p> <p>Agar 5mg/mL</p> <p>Fosfato monopotásico</p> <p>Fosfato dipotásico</p> <p>Agua bidestilada</p> <p>Taxifolina (solución estándar)</p>
Autografía inhibición de XO	<p>Agar 5mg/mL</p> <p>Fosfato monopotásico PBS</p> <p>Fosfato dipotásico PBS</p> <p>EDTA</p> <p>XO solución</p> <p>NBT solución</p> <p>Xantina (sustrato)</p> <p>Alopurinol (solución estándar)</p>
Cromatografía	<p>Cloformo</p> <p>Metanol</p> <p>Trietilamina</p>

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2020

2.5. Acondicionamiento de la materia vegetal

Las hojas secas de *Psychotria poeppigiana* fueron trituradas con la ayuda de un molino de cuchillas obteniendo partículas de 2 a 3 mm aproximadamente, previo a esto se limpiaron y se colocaron en una estufa a 50 °C durante dos días para eliminar el exceso de humedad.

Una vez listo el material vegetal se procedió a guardar en fundas de plástico completamente limpias y de color negro a 25°C en ambiente oscuro hasta su posterior uso.

2.6. Técnicas y procedimientos

2.6.1. Control de calidad

2.6.1.1. Humedad

El ensayo de humedad se realizó por triplicado, aplicando el método gravimétrico por desecación en estufa, se empleó un crisol previamente tarado y se añade 2 mg de muestra, se coloca en la estufa por 3 horas a 105°C, transcurrido este tiempo se retira de la estufa y se coloca en el desecador hasta que alcance la temperatura y se procede a pesar en la balanza analítica, este paso se repite hasta obtener peso constante (Miranda, 2002:p.10)

2.6.1.2. Cenizas totales

Las cenizas totales se determinó empleando el método gravimétrico (Miranda, 2002:p.8).

2.6.1.3. Cenizas solubles en agua

El método gravimétrico se empleó para determinar cenizas solubles en agua (Miranda, 2002:p.9).

2.6.1.4. Cenizas insolubles en HCl

Para la determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico se utilizó los reactivos requeridos y se empleó el método gravimétrico (Miranda, 2002;p.10).

2.6.2. Tamizaje fitoquímico

Se pesó 20 g del material vegetal triturado de *Psychotria poeppigiana* y se procedió a la extracción con éter etílico, etanol al 96% y agua destilada, cada una durante 48 horas. Se realizó los distintos ensayos fitoquímicos en los diferentes extractos para la determinación cualitativa de los principales metabolitos secundarios presentes en *Psychotria poeppigiana* como: alcaloides, taninos, terpenos, fenoles, lactonas, grasas, quinonas, catequinas, azúcares reductores, cumarinas, aminoácidos, mucílagos, resinas, flavonoides y por último principios amargos. Cada procedimiento se realizó como lo indica Miranda et al. (1992:p.31-45)

2.6.3. Obtención del extracto alcaloidal

Se dejó macerar durante 72 horas 50 g de materia seca de *Psychotria poeppigiana* en 500 mL de metanol, cada día se sometió el macerado a sonicación durante una hora una sola vez.

Una vez filtrado el extracto se procede a concentrar en el rotavapor, con las siguientes condiciones: presión reducida y temperatura de 50°C, de tal manera que se obtuvo el extracto seco crudo.

Una vez obtenido el extracto crudo y seco se reconstituye con 200 mL de H₂SO₄ al 2% volumen/volumen ayudando a solubilizar los alcaloides existentes.

A continuación el extracto se desengrasa con éter de petróleo proceso que se realiza por seis veces consecutivas, esto sirve para obtener dos fases, una etérea u orgánica donde se encuentran ceras, aceites y mucílagos, y otra fase acuosa ácida donde permanecen los alcaloides.

A la fase acuosa ácida se añade hidróxido de amonio al 25% volumen/volumen hasta llegar a pH 9.

Se realizan tres extracciones consecutivas para obtener los alcaloides, se adiciona goma arábiga y sulfato de sodio anhidro, con ello se asegura la eliminación por completo de residuos de agua.

El extracto listo se procede a filtrar y evaporar con las condiciones anteriores, durante el tiempo necesario hasta obtener el extracto bruto alcaloidal total, dicho extracto se coloca en un frasco ámbar y se pesa; se reconstituye con metanol absoluto para ser utilizado en los diferentes ensayos.

2.6.4. Cromatografía en capa fina

Se utilizó placas TLC de medidas 6 cm x 4 cm, la siembra se ejecutó en una sola dirección con 10 µL de solución de alcaloides de *Psychotria poeppigiana*. La fase móvil estuvo constituida con cloroformo/trietilamina/metanol (6:5:6 v/v/v), la placa se sumerge en la fase móvil, se retira y se deja secar para revelar en la cámara UV a 254nm y por último se calcula el Rf con la fórmula que se presenta a continuación:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por el soluto (D}_R\text{)}}{\text{distancia recorrida por la fase móvil (D}_{FM}\text{)}}$$

2.6.5. Autografía

Los ensayos que se refieren a la inhibición de XO, captación de radical superóxido fueron desarrollados en base a la técnica empleada por Ramallo et al. (2006:p.16-19), con algunas adaptaciones al presente estudio, mientras tanto para la captación de radicales DPPH[•], se empleó lo dispuesta por Soler et al. (2000:p.330-338).

En las placas TLC se sembraron 10 µL de las diluciones de 1, 5, 10, 50 y 100µg de *Psychotria poeppigiana*, con el método “dot blot”, se dejó secar para continuar los ensayos. El software GEL ANALYZER permitió medir el diámetro que corresponde a cada uno de los halos de inhibición, proporcionando un resultado doble, cualitativo por la intensidad de color y cuantitativo.

2.6.5.1. Método DPPH[•]

Una vez que ha sido sembrada la placa se somete a una solución etanólica DPPH[•] 0,2mM durante cinco segundos aproximadamente, se deja secar al ambiente, como resultado se pudo observar la presencia de manchas de color amarillo, mientras que en los lugares donde existe inhibición se presenta coloración púrpura, el estándar fue ácido ascórbico, ya que posee gran actividad antioxidante.

2.6.5.2. Método Riboflavina/Luz/NBT

Sobre la mezcla de EDTA 1mM, PBS 50mM y agua destilada se adicionó el agar, mismo que se disolvió a 80 °C, la solución se dejó enfriar hasta que llegue a 60 °C y se procede a colocar la solución de NBT y la solución de riboflavina la cual fue filtrada.

En la placa de TLC se colocó 5 mL de solución de riboflavina, se deja solidificar el agar sin presencia de luz, posteriormente se coloca una lámpara fluorescente de 20W para dar inicio a la reacción. En las zonas donde existe captación de radicales superóxido se observa halos de color claro con fondo morado, el estándar que se emplea es la taxifolina.

2.6.5.3. Método NADH/PMS/NBT

A la mezcla que contiene EDTA, PBS con pH 7,9 y agua destilada, se adiciona el agar el cual fue disuelto a 80 °C y se deja enfriar hasta los 60 °C, cuando alcanza dicha temperatura se adiciona la solución de NBT y NADH.

La solución de NADH que fue previamente preparada se distribuye sobre las placas de TLC que contienen las diluciones de *Psychotria poeppigiana* así como taxifolina siendo esta última el estándar, se deja solidificar en un lugar oscuro, las placas se sumergen en una solución de PMS durante 20 minutos a temperatura ambiente en un lugar oscuro. Cuando existe captación de radicales superóxido se observa la presencia de manchas de color claro con fondo púrpura.

2.6.5.4. Inhibición de XO

El agar se disuelve a 80 °C en una mezcla que contiene EDTA y agua destilada, se deja enfriar hasta que alcance la temperatura de 55 °C, y se añade la solución de NBT, la temperatura disminuye alcanzando los 45 °C se adiciona la solución de XO, se mezcla y se obtiene la solución de trabajo.

En las placas de TLC que contiene las diluciones de *Psychotria poeppigiana* y el estándar se adicionó la solución de trabajo antes preparada y se deja en un ambiente oscuro hasta que solidifique, se sumergió en la solución de xantina y se deja reposar alrededor de 30 minutos bajo oscuridad. Cuando hay inhibición de XO se marcan las zonas claras con fondo púrpura oscuro.

El ensayo de XO genera radicales superóxido para indicar la actividad enzimática, los captadores de radicales O_2^- pueden dar resultados falsos positivos, es decir, nos presenta acción inhibitoria sobre la enzima, se debe principalmente a la exposición a la luz por esta razón se realizaron pruebas para dos sistemas de generación no enzimática de radicales superóxido de tal manera que se pueda identificar un inhibidor puro de XO de un captador de O_2^- con el sistema Riboflavina/Luz/NBT y NADH/PMS/NBT.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS

3.1. Control de calidad de la materia vegetal

Tabla 1-3: Datos obtenidos del control de calidad de la planta.

ENSAYO	REFERENCIA FARMACOPEA EUROPEA	<i>Psychotria poeppigiana</i>
Humedad (%)	7-14	7,3853 ± 0,0045
Cenizas totales (%)	12	9,2477 ± 0,0028
Cenizas solubles en agua (%)	7	5,3722 ± 0, 0032
Cenizas insolubles en ácido (%)	5	1,8243 ± 0, 0114

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2020

La presencia de agua o contenido de humedad en una muestra vegetal acelera los procesos de degradación, pues contribuye a la acción enzimática, dando como resultado la descomposición del material vegetal, siendo imposible su uso, es así que en la tabla 1-3 se muestra los resultados del control de calidad de la muestra vegetal, donde la humedad de las hojas de *Psychotria poeppigiana* fue de 7,3853% el cual se encuentra dentro de los límites establecidos por la farmacopea europea, siendo así que se garantiza el uso del material vegetal en los ensayos posteriores, las cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido dieron valores de 9,2477%, 5,3722% y 1,8243% , resultados que están dentro del rango aceptado por la farmacopea europea demostrando que el material vegetal que se empleará contiene la presencia de compuestos orgánicos e inorgánicos y minerales que proceden de su tejido vegetal y del lugar donde se encontraban antes de su recolección.

3.2. Tamizaje Fitoquímico

Tabla 2-3: Resultados del Tamizaje fitoquímico realizado a *Psychotria poeppigiana*

ENSAYO	METABOLITO A IDENTIFICAR	EXTRACTO ETÉREO	EXTRACTO ALCOHÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
Dragendorff	Alcaloides	-	++	+++
Mayer		-	++	+++
Wagner		-	++	+++
Libermann- Burchard	Terpenoides	+	+	+
Cloruro férico	Taninos y Fenoles	NA	+	+++
Borntrager	Quinonas	NA	+	NA
Sudán	Aceites y Grasas	NA	++	+++
Baljet	Lactonas y Cumarinas	+	+	++
Fehling	Azúcares reductores	NA	++	+++
	Resinas	NA	-	NA
Ninhidrina	Aminoácidos	NA	-	NA
Espuma	Saponinas	NA	-	-
Shinoda	Flavonoides	NA	++	+++
Mucílagos	Mucílagos	NA	NA	-
Principios amargos	Principios amargos	NA	NA	+

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2020

Los resultados del tamizaje fitoquímico se muestran en la tabla 2-3, el extracto hidroalcohólico de *Psychotria poeppigiana* frente a los ensayos de Dragendorff, Mayer y Wagner permitieron identificar la presencia de alcaloides en la planta, siendo estos metabolitos posibles responsables de la actividad antioxidante y captación de radicales libres. El extracto al ser sometido a los ensayos de Shinoda, Fehling, Sudán y Cloruro férrico permitió observar la presencia de flavonoides, azúcares reductores, aceites, y fenoles; mientras tanto el extracto etéreo fue positivo

para lactonas y terpenoides, por último el extracto alcohólico fue positivo también para alcaloides, flavonoides, azúcares reductores y grasas.

3.3. Obtención de alcaloides

Tabla 3-3-: Resultados de la extracción de alcaloides totales

Muestra vegetal	Peso del material vegetal seco (g)	Solvente de extracción (mL)	Extracción de alcaloide totales (mg)	Rendimiento total (%R)
<i>Psychotria poeppigiana</i>	50	500	50	0,05

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2020

Como se muestra en la tabla 3-3 el rendimiento de los alcaloides presentes en la especie *Psychotria poeppigiana* corresponde a 0,05% a partir de una extracción líquido-líquido con variación de pH, el porcentaje de rendimiento va a depender directamente de varios factores como temperatura y polaridad tanto de los solventes como de los metabolitos que se desean extraer además de la volatilidad que presentan a la luz (Azcon y Talon, 2008:p.168).

La cantidad de metabolitos secundarios que se pueden obtener se conoce a partir del porcentaje de rendimiento obtenido.

3.4. Cromatografía en capa fina TLC

Tabla 4.3: Resultados de la cromatografía en capa fina realizada al extracto alcaloidal de *Psychotria poeppigiana*.

Extracto vegetal	Distancia recorrida por la fase móvil (cm)	Distancia recorrida por el soluto (cm)	Rf	Componentes de la fase móvil
Alcaloides de <i>Psychotria poeppigiana</i>	4,2	2,1	0,52	Cloroformo Trietilamina Metanol

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2020

En la tabla 4-3 se muestra el Rf de los alcaloides de *Psychotria poeppigiana* dando un valor de 0,52, esto indica la presencia de compuestos que provienen de la triptamina, con ello se corrobora lo que está descrito en algunas fuentes bibliográficas que dicen que el género *Psychotria* presenta como característica de su estructura la presencia del aminoácido triptófano (Rahalison et al., 1991).

Para la fase móvil se empleó cloroformo, trietilamina y metanol en proporción 6:5:6, una vez lista la placa TLC se reveló a una longitud de onda de 254 nm verificando así los metabolitos secundarios del tamizaje fitoquímico.

3.5. Autografía-Ensayos

3.5.1. Captación DPPH·

Tabla 5-3: Resultados de la capacidad para captar radicales DPPH·, ácido ascórbico y alcaloides totales de *Psychotria poeppigiana*.

Concentración extracto alcaloidal <i>P. poeppigiana</i> (µg)	Áreas calculadas por el software GelAnalyzer	
	<i>P. poeppigiana</i>	Ácido ascórbico (estándar)
1	645	2145
5	2015	5268
10	3445	6686
50	4568	10145
100	7748	11025

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2020

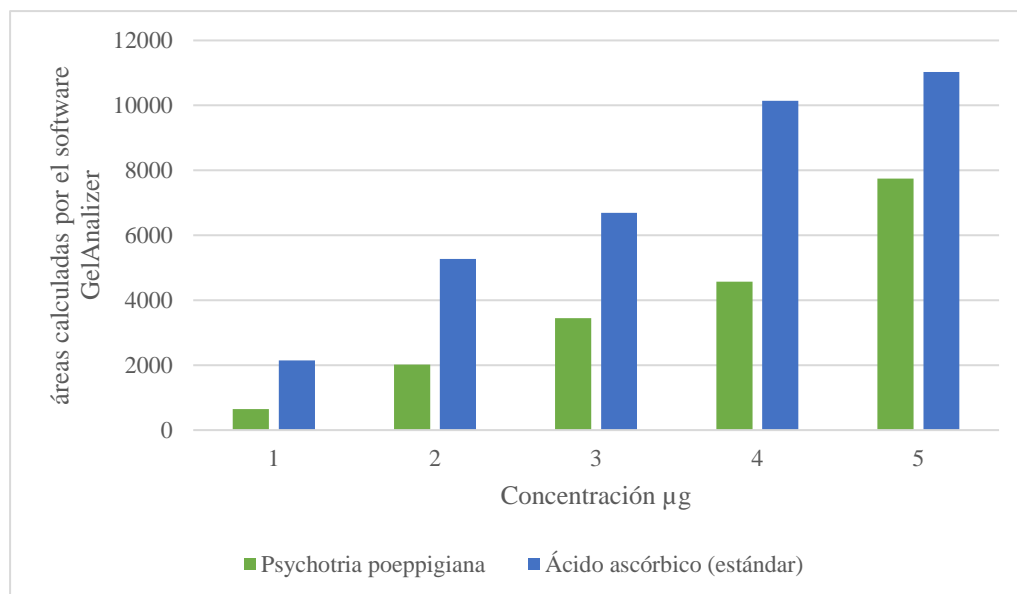


Gráfico 1-3: Áreas de captación de DPPH, concentración *P. poeppigiana* y concentración de ácido ascórbico.

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2010

El gráfico 1-3 muestra la capacidad de captar radicales DPPH·, es decir su potencial antioxidante, el cual es proporcional a la concentración, es decir, a mayor concentración mayor capacidad de captación de radical DPPH·, de tal manera que *Psychotria poeppigiana* y la solución estándar empleada presentan alta capacidad de inhibición frente a los radicales DPPH·.

3.5.2. Riboflavina/Luz/NBT

Tabla 6-3: Resultados obtenidos de la captación de radical $O_2^{\cdot-}$ con el sistema riboflavina/luz/NBT, taxifolina y extracto alcaloidal de *P. poeppigiana*.

Concentración extracto alcaloidal <i>P. poeppigiana</i> (µg)	Áreas calculadas por el software GelAnalyzer para captar $O_2^{\cdot-}$	
	<i>P. poeppigiana</i>	Taxifolina (estándar)
1	54	75
5	205	238
10	344	786
50	596	845
100	695	882

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2020.

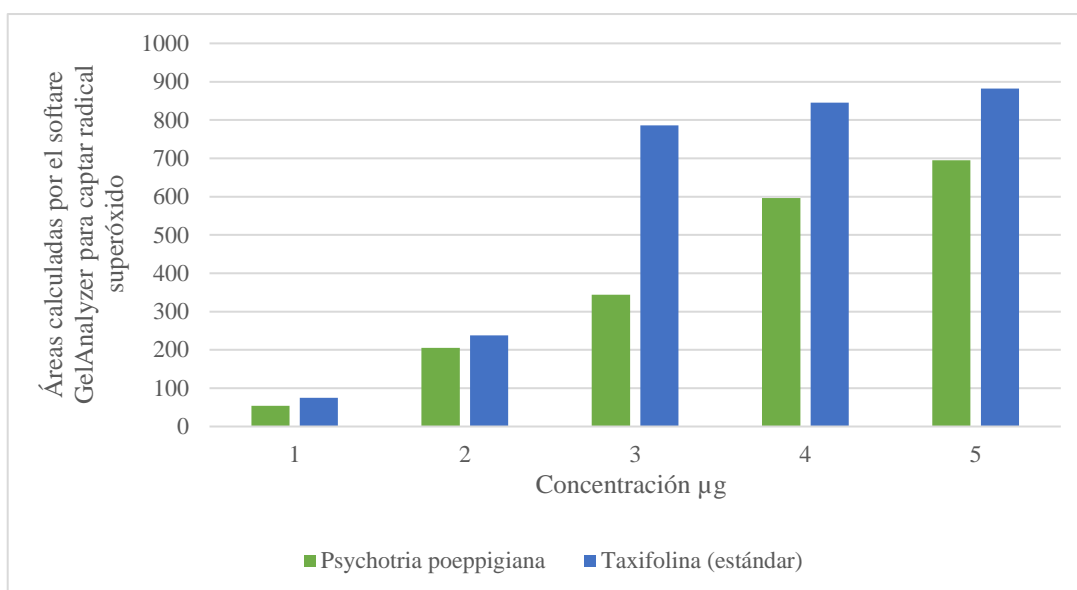


Gráfico 2-3: Áreas de captación de $O_2^{\cdot-}$, concentración de *P. poeppigiana* y taxifolina

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2020

En el gráfico 2-3 se puede observar que la capacidad de captar radicales $O_2^{\cdot-}$ de parte del extracto alcaloidal de *Psychotria poeppigiana* como del estándar empleado (taxifolina) es muy similar entre sí, cabe mencionar que la capacidad de captación es directamente proporcional a la concentración del extracto.

3.5.3. NADH/PMS/NBT

Tabla 7-3: Resultados obtenidos de la captación de $O_2^{\cdot-}$, a partir del sistema NADH/PMS/NBT

Concentración extracto alcaloidal <i>P. poeppigiana</i> (µg)	Áreas calculadas por el software GelAnalyzer para captar $O_2^{\cdot-}$	
	<i>P. poeppigiana</i>	Taxifolina
1	121	253
5	237	369
10	288	467
50	367	522
100	451	618

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2020

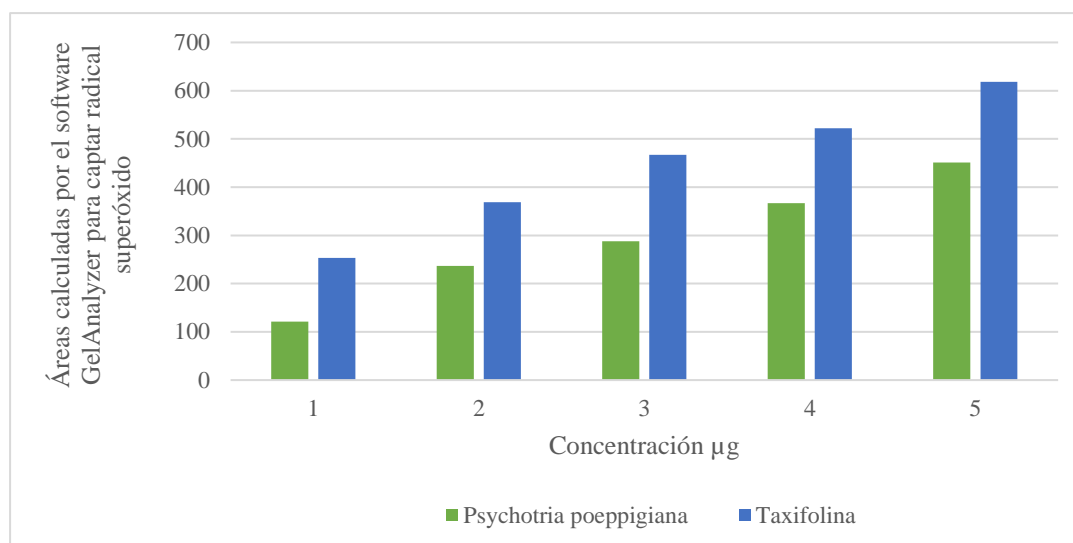


Gráfico 3-3: Áreas de captación de radical superóxido a partir de NAND/PMS/NBT Taxifolina y *P. Poeppigiana*.

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2020

En el gráfico 3-3 se puede observar la capacidad de captar radicales superóxido a partir del ensayo de NADH/PMS/NBT con el extracto de *Psychotria poeppigiana* mismo que dio resultados favorables hacia la captación de dicho radical, mientras tanto el estándar que se utilizó fue la taxifolina presentando también una apreciable captación del radical superóxido. Al igual que en los ensayos anteriores al aumentar la concentración del extracto aumenta la capacidad de captación, presentando una relación directamente proporcional.

3.5.4. Inhibición de XO (xantina oxidasa)

Tabla 8-3: Resultados obtenidos a partir del software GelAnalyzer para inhibición de XO

Concentración extracto alcaloidal <i>P. poeppigiana</i> (µg)	Áreas calculadas por el software GelAnalyzer para captar $O_2^{\cdot -}$	
	<i>P. poeppigiana</i>	Alopurinol
1	0,0	435
5	0,0	1546
10	0,0	2144
50	0,0	3018

continua

100	0,0	4445
-----	-----	------

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2020

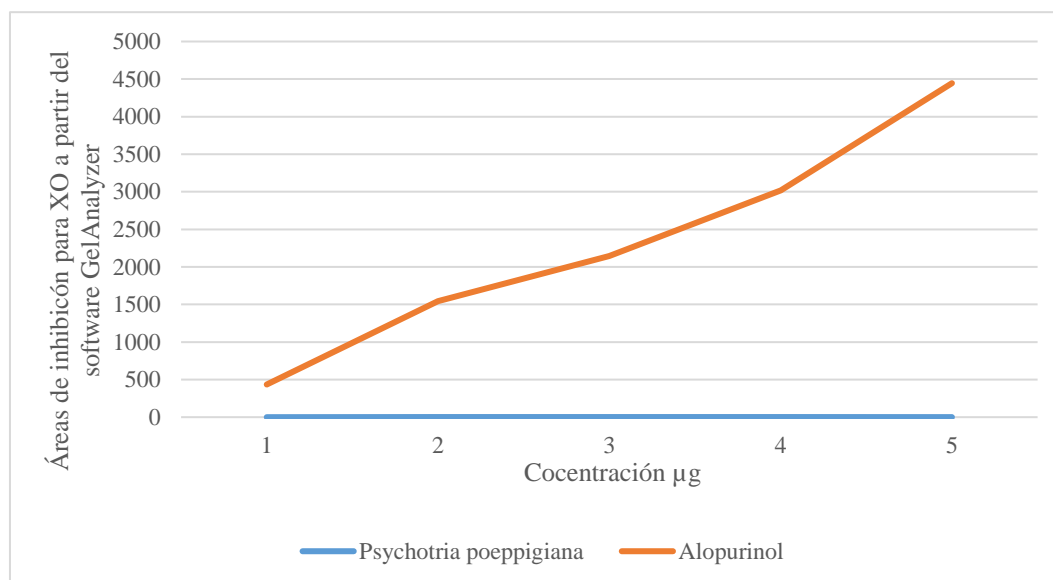


Figura 1-3: Áreas de inhibición de XO con relación al Alopurinol y extracto de *P. poeppigiana*.

Realizado por: Pazos Lisbeth, 2020.

La figura 1-3 muestra la inhibición de la enzima xantina oxidasa frente al estándar (Alopurinol), donde el potencial inhibitorio que tiene dicho medicamento frente a la enzima es alto, mientras tanto en el caso de *Psychotria poeppigiana* no ocurre lo mismo, aquí se puede observar que la capacidad de inhibición frente a la enzima es nula, por lo tanto no puede actuar como un inhibidor de xantina oxidasa.

3.6. Discusión

Los ensayos autográficos a cargo de los sistemas RIBOFLAVINA/LUZ/NBT, NADH/PMS/NBT y Captación de radical DPPH·, sirvieron para obtener resultados de la actividad de los alcaloides de *Psychotria poeppigiana* como captadores de electrones y como antioxidantes de interés. Cabe mencionar que el género *Psychotria* presenta en su estructura derivados de la triptamina, por ello, se atribuye actividades biológicas a este género y los alcaloides presentes en las diferentes especies derivan principalmente del triptófano.

Del triptófano se derivan principalmente sustancias químicas como la serotonina y melatonina, las cuales presentan cierta actividad antioxidante, debido a la presencia de la estructura aminoindol propia de las triptaminas, es por ello que a partir de la actividad antioxidante que presentan pueden sintetizarse moléculas con mayor potencial antioxidante. En la bibliografía existente sobre este tipo de casos hay estudios que priorizan la captación de radicales hidroxilo y peroxilo, dejando a un lado las demás especies reactivas de oxígeno (ROS).

Existen estudios acerca de varias especies del género *Psychotria*, los cuales atribuyen grandes propiedades farmacológicas a diferentes especies como en el caso de *P. colorata* la cual es ampliamente utilizada para calmar el dolor de oído y dolores abdominales presentando una potente acción analgésica, *P. papanthlensis* se emplea en procesos inflamatorios, así como *P. poeppigiana* la cual es utilizada por los indígenas del Putumayo Colombia para tratar enfermedades de las vías respiratorias y sobre todo como antihemorrágico uterino.

Los estándares que se emplean como el ácido ascórbico y la taxifolina, se deben a la capacidad de captar radicales libres y al potencial inhibitorio sobre la enzima xantina oxidasa respectivamente, además de ser sustancias que ya se han aplicado en estudios anteriores Ramallo et al., 2006.

CONCLUSIONES

El control de calidad efectuado a *Psychotria poeppigiana* permitió verificar la idoneidad del material vegetal mediante los ensayos de: humedad, cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido. Los resultados se encontraron dentro del rango establecido por la Farmacopea Europea, indicando que dicha especie es apta para ser utilizada y no presenta contaminación que pueda interferir en los análisis.

El tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico que se efectuó a las hojas de *Psychotria poeppigiana* permitió conocer la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, terpenos, taninos, quinonas y de principios amargos.

El extracto macerado de *Psychotria poeppigiana* dio como rendimiento total 0,05% del extracto bruto alcaloidal presente en la especie, esta cantidad fue suficiente para llevar a cabo las pruebas pertinentes a la fracción alcaloidal.

El extracto de *Psychotria poeppigiana* presentó un Rf de 0,52 a partir de la cromatografía en capa fina, la cual es utilizada para evaluar los compuestos que están presentes en una mezcla. El resultado del Rf puede ser un indicio de la presencia de compuestos derivados de la triptamina, ya que el género *Psychotria* presenta alcaloides del aminoácido triptófano.

Los ensayos autográficos a cargo de los sistemas RIBOFLAVINA/LUZ/NBT y NADH/PMS/NBT, indicaron que los alcaloides presentes en *Psychotria poeppigiana* poseen actividad para captar radicales DPPH· y radicales superóxido. Mientras tanto el ensayo XANTINA/XANTINAOXIDASA/NBT, permitió observar que no existe ningún tipo de actividad, a partir de ello se puede identificar los captadores de radicales superóxido de aquellos que presentan inhibición sobre xantina oxidasa.

RECOMENDACIONES

Se recomienda tomar en cuenta los factores ambientales al momento de recolectar la planta, del lugar donde se realiza los ensayos y a su vez las características físico – químicas de los compuestos, ya que el rendimiento de los alcaloides totales dependerá de estos parámetros.

Al momento de realizar ensayos autográficos el área de trabajo debe ser limpia y con la menor disponibilidad de luz, así se puede evitar una contaminación cruzada y a su vez reacciones de fotosensibilidad que no se desean y que pueden afectar el resultado de las autografías a realizarse.

Por último y no menos importante es recomendable realizar estudios exhaustivos y minuciosos de los diferentes metabolitos secundarios que presenta *Psychotria poeppigiana*, haciendo énfasis en los alcaloides, puesto que todos en conjunto presentan actividades farmacológicas que se le atribuyen a la especie.

GLOSARIO

Absorbancia: Es una medida que indica la cantidad de luz que ha sido absorbida por una muestra, se lleva a cabo mediante espectrometría, las unidades de esta medición son conocidas como unidad de absorbancia y no presentan dimensión. La absorbancia se conoce como extinción o densidad óptica (Peña et al., 2019:p.95).

Ácido ascórbico: Se conoce como vitamina C, es hidrosoluble y presenta sabor ácido. Es un ácido con alto poder antioxidante, en los seres humanos no es posible sintetizar a partir del organismo es por ello que se debe adquirir a partir de la dieta (Nunes et al., 2019:p.442).

Alcaloide: Aquellos metabolitos secundarios que están presentes en ciertas especies vegetales y que generalmente provienen de aminoácidos, se caracterizan por presentar en su estructura átomos de nitrógeno (Manosalva et al., 2019:p.18).

Antioxidante: Moléculas de origen sintético o natural que tienen la capacidad de retardar o prevenir las reacciones de oxidación que pueden sufrir otras moléculas (Kobus y Cisowska et al., 2020:p. 1).

Autografía: Método de análisis que se basa en la separación de compuestos e identificación de los mismos, emplea diversas técnicas como TLC o cromatografía en capa fina, HPLC o cromatografía en capa fina de alto rendimiento, Electro cromatografía o CEC, y la cromatografía laminar de rendimiento óptimo OPLC (Ávila et al., 2011).

Cromatografía en capa fina: Es una técnica muy versátil y económica frente a ensayos analíticos, se emplea una placa de sílice gel la cual será sumergida en la fase móvil que estará formada por los solventes a elección (Alvarado y Felipe 2010).

DPPH·: El 2,2- difenil-1-picrilhidracilo es un radical libre de naturaleza estable, se debe a que los electrones presentes en la molécula están reubicados. Si se agrega un átomo de hidrógeno a la molécula de DPPH· la coloración violeta cambia a amarillo (Mensor et al., 2001:p.128).

Formazán: Son compuestos que se obtienen de la reducción de sales de tetrazolio, se caracterizan por presentar colores intensos, entre los que más destacan son el rojo cereza y el violeta-púrpura intenso (Cory et al., 1991:p.208).

Hiperuricemia: Se conoce como hiperuricemia a la afección que presenta los valores de ácido úrico con valores superiores a 7mg/dL y 5,7mg/dL en hombres y mujeres respectivamente (Valverde y Calderón 2011).

NBT: Sal de tetrazolio de coloración amarilla, soluble en agua, cuando el radical superóxido está presente reduce a la sal de tetrazolio a formazán cambiando su color a violeta intenso (Rook et al., 1985).

Radical libre: Moléculas o átomos muy reactivos, presentan un electrón desapareado en su capa más externa generando así su inestabilidad (Montero 1996).

Radical superóxido: Se genera cuando el oxígeno se reduce a un solo electrón, da como resultado un radical superóxido con elevada capacidad de reacción, dichos radicales se pueden formar durante vías de metabolización normal donde participan diferentes enzimas (García Triana et al., 1995).

Riboflavina: Se conoce como vitamina B₂, actúa como cofactor en algunas reacciones enzimáticas, es hidrosoluble y se sintetiza a partir de plantas y bacterias. La deficiencia de esta vitamina provoca enfermedades cardiovasculares, cáncer y anemia (NAKAGAWA et al., 1996).

Taxifolina: Flavonoide con alto poder inhibitorio frente a radicales libres, presente principalmente en cítricos, vegetales como la cebolla y en el aceite de oliva, con actividades farmacológicas como hepatoprotector, y antiinflamatorio (An et al., 2008).

Xantina oxidasa: Enzima responsable del metabolismo de las purinas, catalizando la hipoxantina a xantina y generando ácido úrico, además de generar especies reactivas de oxígeno (Isaza et al., 2007).

BIBLIOGRAFÍA

AHMAD, Ijaz; et al. "Xanthine oxidase/tyrosinase inhibiting, antioxidant, and antifungal oxindole alkaloids from *Isatis costata*". *Pharmaceutical Biology* [en línea], 2010, (Pakistan) 48(6), pp.716–721. [Consulta: 18 diciembre 2019]. ISSN 1388-0209. Disponible en: <https://doi.org/10.3109/13880200903271298>

ALVARADO, Molina; & FELIPE, Javier. "Aplicaciones de la cromatografía en capa fina en la determinación cualitativa de cineol, eugenol y citronelal en aceites esenciales". [en línea], 2010, (Chile), pp.615-619. [Consulta: 20 enero 2020]. ISSN 3561-3001. Disponible en: <http://repositorio.unab.cl/xmlui/handle/ria/1733>

ALVES, et al. "Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos". *Química Nova* [en línea], 2010, (Brasil) 33(10), pp. 2202–2210. [Consulta: 17 enero 2020]. ISSN 0100-4042. Disponible en: <https://doi.org/10.3109/13880200903271298>

AN, et al. "Flavonoids, taxifolin and luteolin attenuate cellular melanogenesis despite increasing tyrosinase protein levels." *Phytotherapy Research* [en línea], 2008, (Republic of Korea) 22(9), pp.1200–1207 [Consulta: 20 enero 2020]. ISSN 1099-1573. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ptr.2435>

ÁVILA, et al. "ANTIFUNGAL FLAVONOIDS ISOLATED FROM *Piper septuplinervium* (Miq.) C. DC (Piperaceae)". *Revista Colombiana de Química* [en línea], 2011, (Colombia) 40(1), pp.25–33 [Consulta: 20 enero 2020]. ISSN 0120-2804. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S012028042011000100002&lng=en&nrm=iso&tlng=es

AZCON, Bieto; & TALON. *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGraw-Hill Interamericana. 2008.

BARAJAS, et al. "Tabaco de chupaflor, hierba de la cagalera *Psychotria poeppigiana* - PDF" [en línea] (Trabajo de Titulación). Pregrado Universidad Juan Corpas, Bogotá, Colombia. 2014. pp.8-11 [Consulta: 2019-11-15]. Disponible en: <https://docplayer.es/42976600-Tabaco-de-chupaflor-hierba-de-la-cagalera-psychotria-poeppigiana.html>

BARDIN, et al. "Prevalence of Gout in the Adult Population of France". *Arthritis Care & Research* [en línea], 2016, (France) 68(2), pp.261–266 [Consulta: 8 enero 2020]. ISSN 2151-4658. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/acr.22660>

BATTELLI, M. G., et al. "Determination of xanthine oxidase in human serum by a competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)". *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* [en línea], 1999, (Italy) **281**(1–2), pp.147–158. ISSN 0009-8981. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/s0009-8981\(98\)00220-4](https://doi.org/10.1016/s0009-8981(98)00220-4)

BERGER, et al. "New reports on flavonoids, benzoic- and chlorogenic acids as rare features in the Psychotria alliance (Rubiaceae)". *Biochemical Systematics and Ecology* [en línea], 2016, (Austria) **66**, pp.145–153 [Consulta: 10 enero 2020]. ISSN 0305-1978. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.02.027>

BISHT, Manisha; & BIST, S. "Febuxostat: A Novel Agent for Management of Hyperuricemia in Gout". *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* [en línea], 2011, (India) **73**(6), pp.597–600 [Consulta: 16 enero 2020]. ISSN 0250-474X. Disponible en: <https://doi.org/10.4103/0250-474X.100231>

BORHIDI, A; & BARRETO, A. Introducción a la taxonomía de la familia Rubiaceae en la flora de México. *Acta Botanica Hungarica* [en línea], 2002, (México) **44**(3–4), pp.237–280 [Consultado: 04 noviembre 2019]. ISSN 0236-6495, 1588-2578. Disponible en: <https://doi.org/10.1556/ABot.44.2002.3-4.5>

BORHIDI, et al. Nuevos resultados de la revisión taxonómica de los géneros *Palicourea* y *Psychotria* (Rubiaceae, Psychotrieae) en Cuba. *Acta Botanica Hungarica* [en línea], 2016, (Cuba) **58**(1–2), pp.1–48 [Consulta: 04 noviembre 2019]. ISSN 0236-6495, 1588-2578. Disponible en: <https://doi.org/10.1556/034.58.2016.1-2.1>

BOTERO, et al. POTENCIAL DE REGENERACIÓN DE *Psychotria ipecacuanha* (Rubiaceae) A PARTIR DE CAPAS DELGADAS DE CÉLULAS. *Acta Biológica Colombiana* [en línea], 2015, (Colombia) **20**(3), pp.181–192 [Consulta: 15 enero 2020]. ISSN 1900-1649, 0120-548X. Disponible en: <https://doi.org/10.15446/abc.v20n3.47354>

BULL, P.; & SCOTT, J. Intermittent control of hyperuricemia in the treatment of gout. *The Journal of Rheumatology* [en línea], 1989, **16**(9), pp.1246–1248. ISSN 0315-162X.

CALIXTO, et al. The Genus *Psychotria*: Phytochemistry, Chemotaxonomy, Ethnopharmacology and Biological Properties. *Journal of the Brazilian Chemical Society* [en línea], 2016, (Brasil) **27**(8), pp.1355–1378 [Consulta: 18 diciembre 2019]. ISSN 0103-5053. Disponible en: <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20160149>

CORRALES, Lucía Constanza; & Maira María MUÑOZ. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *NOVA* [en línea], 2012, (Colombia) **10**(18),

[Consulta: 16 enero 2020]. ISSN 2462-9448. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1794-24702012000200009&lng=en&nrm=iso&tlng=es

CORY, et al. *Use of an Aqueous Soluble Tetrazolium/Formazan Assay for Cell Growth Assays in Culture* [en línea], 1991, 3(7), pp. 207-212 [Consulta: 20 enero 2020]. Disponible en: <https://doi.info:doi/10.3727/095535491820873191>

COVARRUBIAS, et al. Function of reactive oxygen species during animal development: Passive or active? *Developmental Biology* [en línea], 2008, (México) **320**(1), pp.1–11 [Consulta: 08 enero 2020]. ISSN 0012-1606. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0012160608008518>

DARWIN, Steven; The Subfamilial, Tribal and Subtribal Nomenclature of the Rubiaceae. *Taxon* [en línea], 1976, **25**(5/6), pp.595–610 [Consulta: 15 enero 2020]. ISSN 0040-0262. Disponible en: <https://www.jstor.org/stable/1220118>

DAWSON, Jesse; & WALTERS, Matthew. "Uric acid and xanthine oxidase: future therapeutic targets in the prevention of cardiovascular disease?" *British Journal of Clinical Pharmacology* [en línea], 2006, (United Kingdom) **62**(6), pp.633–644. ISSN 0306-5251. Disponible en: [doi:10.1111/j.1365-2125.2006.02785.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2006.02785.x)

DE CARVALHO, et al. Chapter 7 - Psychotria Genus: Chemical Constituents, Biological Activities, and Synthetic Studies. In: ATTA-UR-RAHMAN, ed. *Studies in Natural Products Chemistry* [en línea], 2016, pp. 231–261 [Consulta: 08 diciembre 2019]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444636027000072>

DE LA TORRE, et al. *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador (con extracto de datos)* [en línea], 2008, [Consulta: 15 enero 2020]. Disponible en: [/paper/Enciclopedia-de-las-Plantas-%C3%9Atiles-del-Ecuador-\(con-Torre-Navarrete/7efe12ff8f182420a6eefe017e8f3dd089a2bef1](http://paper/Enciclopedia-de-las-Plantas-%C3%9Atiles-del-Ecuador-(con-Torre-Navarrete/7efe12ff8f182420a6eefe017e8f3dd089a2bef1)

DEWANJEE, et al. Bioautography and its scope in the field of natural product chemistry. *Journal of Pharmaceutical Analysis* [en línea], 2015, (India) **5**(2), pp.75–84 [Consulta: 17 enero 2020]. ISSN 2095-1779. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095177914000598>

ELISABETSKY, et al. Analgesic activity of *Psychotria colorata* (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg. alkaloids. *Journal of Ethnopharmacology* [en línea], 1995, (Brasil) **48**(2), pp.77–83 [Consulta: 15 enero 2020]. ISSN 0378-8741. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/037887419501287N>

FEIG, et al. Effect of allopurinol on blood pressure of adolescents with newly diagnosed essential hypertension: a randomized trial. *JAMA* [en línea], 2008, **300**(8), pp.924–932. ISSN 1538-3598. Disponible en: doi:10.1001/jama.300.8.924

FERRANDO, et al. Alopurinol y su papel en el tratamiento de la sarcopenia. *Revista Española de Geriatría y Gerontología* [en línea], 2014, (España) **49**(6), pp.292–298 [Consulta: 08 enero 2020]. ISSN 0211139X. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0211139X14000900>

FRAGOSO, et al. Antioxidant and antimutagenic properties of the monoterpene indole alkaloid psychollatine and the crude foliar extract of *Psychotria umbellata* Vell. *Toxicology in Vitro* [en línea], 2008, (Brasil) **22**(3), pp.559–566 [Consulta: 15 enero 2020]. ISSN 0887-2333. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887233307003268>

FRESCURA, et al. Post-treatment with plant extracts used in Brazilian folk medicine caused a partial reversal of the antiproliferative effect of glyphosate in the *Allium cepa* test. *Biocell: diario oficial de las Sociedades Latinoamericanas de Microscopia Electronica*. [en línea], 2013, (Buenos Aires) pp.23–28. Disponible en: https://pdfs.semanticscholar.org/aa98/c2a6809a81069126a72aa582da592b62d44c.pdf?_ga=2.250259077.208951902.1579111143-589296743.1579111143

GALLEGOS ZURITA, Maritza. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina* [en línea], 2016, (Ecuador) **77**(4), pp.327 [Consulta: 17 diciembre 2019]. ISSN 1609-9419, 1025-5583. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/12647>

GALLEGOS-ZURITA, et al. Diseño y validación del cuestionario U-PlanMed para identificación del uso de plantas medicinales en Babahoyo, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina* [en línea], 2016, (Ecuador) **77**(3), pp.207–212 [Consulta: 17 enero 2020]. ISSN 1025-5583. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1025-55832016000300002&lng=es&nrm=iso&tlng=es

GARCÍA TRIANA, et al. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: I. Superóxido dismutasas. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* [en línea], 1995, (Cuba) **14**(1), pp.0–0 [Consulta: 20 enero 2020]. ISSN 0864-0300. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-03001995000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es

GARCÍA, Zorrilla; & Adonis, E. El envejecimiento y el estrés oxidativo. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* [en línea], 2002, (Cuba) **21**(3), pp.178–185 [Consulta: 17 enero 2020]. ISSN 0864-0300. Disponible

en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-03002002000300006&lng=es&nrm=iso&tlng=en

GARRIDO, et al. Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. Phil. [en línea], 2013, (Chile) **1**(1), pp.30-38. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4960/496050264003.pdf>

GOICOECHEA, et al. Hiperuricemia, gota y enfermedad renal crónica. *Nefrología* [en línea], 2012, **3**(2), pp.8–15 [Consulta 04 diciembre 2019]. ISSN 0211-6995. Disponible en: <https://doi:10.3265/NefrologiaSuplementoExtraordinario.pre2012.Mar.11444>

GREENBERG, E. R.; & SPORN, M.B. Antioxidant vitamins, cancer, and cardiovascular disease. *The New England Journal of Medicine* [en línea], 1996, (Canada) **334**(18), pp.1189–1190. ISSN 0028-4793. Disponible en: <https://doi:10.1056/NEJM199605023341810>

GUTIÉRREZ, Venereo; & R, Justo. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar* [en línea], 2002, (Cuba) **31**(2), pp.126–133 [Consulta: 17 enero 2020]. ISSN 0138-6557. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S013865572002000200009&lng=es&nrm=iso&tlng=pt

HALEVY, et al. Allopurinol is the most common cause of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Europe and Israel. *Journal of the American Academy of Dermatology* [en línea], 2008, (Europa e Israel) **58**(1), pp.25–32. ISSN 1097-6787. Disponible en: <https://doi:10.1016/j.jaad.2007.08.036>

HARRISON, Roger. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? *Free Radical Biology & Medicine* [en línea], 2002, (United Kingdom) **33**(6), pp.774–797. ISSN 0891-5849. Disponible en: [https://doi:10.1016/s0891-5849\(02\)00956-5](https://doi:10.1016/s0891-5849(02)00956-5)

HILLE, et al. The Mononuclear Molybdenum Enzymes. *Chemical Reviews* [en línea], 2014, (United States) **114**(7), pp.3963–4038 [Consulta: 16 enero 2020]. ISSN 0009-2665. Disponible en: <https://doi:10.1021/cr400443z>

CHALÈS, et al. Gota. *EMC - Aparato Locomotor* [en línea], 2017, **50**(4), pp.1–21 [Consulta: 08 enero 2020]. ISSN 1286-935X. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1286935X17872245>

CHOMA, Irena; & GRZELAK Edyta. Bioautography detection in thin-layer chromatography. *Journal of chromatography. A* [en línea], 2010, **1218**, pp.2684–91. Disponible en: <https://doi:10.1016/j.chroma.2010.12.069>

ICHIMORI, et al. Inhibition of Xanthine Oxidase and Xanthine Dehydrogenase by Nitric Oxide NITRIC OXIDE CONVERTS REDUCED XANTHINE-OXIDIZING ENZYMES INTO THE DESULFO-TYPE INACTIVE FORM. *Journal of Biological Chemistry* [en línea], 1999, **274**(12), pp.7763–7768 [Consulta: 16 enero 2020]. ISSN 0021-9258, 1083-351X. Disponible en: <http://www.jbc.org/content/274/12/7763>

ISAZA, et al. Determinación espectrofotométrica de la actividad inhibitoria de xantina oxidasa en extractos de algunas plantas melastomataceas. *Scientia et technica* [en línea], 2007, (Colombia) **1**(33) [Consulta: 20 enero 2020]. ISSN 2344-7214. Disponible en: <http://revistas.utp.edu.co/index.php/revistaciencia/article/view/5787>

JAMES, Hillary. Gota. *Revista de la Facultad de Medicina* [en línea], 2014, (México) **57**(4), pp.58–60 [Consulta: 10 enero 2020]. ISSN 0026-1742. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0026-17422014000400058&lng=es&nrm=iso&tlng=es

KAPOOR, Neha; & SAXENA, Sanjai. Xanthine oxidase inhibitory and antioxidant potential of Indian Muscodor species. *3 Biotech* [en línea], 2016, (India) **6**(2) [Consulta: 15 enero 2020]. ISSN 2190-5738. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5114212/>

KEDARE, Sagar, & SINGH, R. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology* [en línea], 2011, (India) **48**(4), pp.412–422 [Consulta: 17 enero 2020]. ISSN 0022-1155. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3551182/>

KOBUS-CISOWSKA, et al. Antioxidant potential of various solvent extract from *Morus alba* fruits and its major polyphenols composition. *Ciência Rural* [en línea], 2020, (Poland) **50**(1), pp.1-10 [Consulta: 20 enero 2020]. ISSN 0103-8478. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S010384782020000100751&lng=en&nrm=iso&tlng=en

LEE, et al. Allopurinol, Xanthine Oxidase, and Cardiac Ischemia. *Journal of Investigative Medicine* [en línea], 2009, **57**(8), pp.902–909 [Consulta: 16 enero 2020]. ISSN 1081-5589, 1708-8267. Disponible en: <https://jim.bmj.com/content/57/8/902>

LOBO, et al. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews* [en línea], 2010, **4**(8), pp.118–126 [Consulta: 17 enero 2020]. ISSN 0973-7847. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3249911/>

LOVE, et al. Urate-lowering therapy for gout: focus on febuxostat. *Pharmacotherapy* [en línea], 2010, **30**(6), 594–608. ISSN 1875-9114. Disponible en: <https://doi:10.1592/phco.30.6.594>

MADUREIRA, Maria. "Estudo Etnofarmacológico de Plantas Mediciniais de S. Tomé e Príncipe" [en línea], 2008, ISBN 978-989-20-0760-1. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/265003531_Estudo_Etnofarmacologico_de_Plantas_Mediciniais_de_S_Tome_e_Principe

MAIUOLO, et al. Regulation of uric acid metabolism and excretion. *International Journal of Cardiology* [en línea], 2016, (Italy) **213**, pp.8–14. ISSN 1874-1754. Disponible en: <https://doi:10.1016/j.ijcard.2015.08.109>

MANOSALVA, et al. Actividad antialimentaria de los extractos de alcaloides de calafate (*Berberis microphylla*, G. Forst, 1789) sobre larvas de la polilla de la col (*Plutella xylostella*, Linnaeus, 1758). *Anales del Instituto de la Patagonia* [en línea], 2019, (Chile) **47**(1), pp.17–23 [Consulta: 20 enero 2020]. ISSN 0718-686X. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0718686X2019000100017&lng=es&nrm=iso&tlng=en

MARGALHO, et al. Preliminary Checklist of the Neotropical Genus *Simira* Aubl. (Rubiaceae) [en línea], 2012, [Consulta: 15 enero 2020]. Disponible en: https://www.academia.edu/21402406/Preliminary_Checklist_of_the_Neotropical_Genus_Simira_Aubl._Rubiaceae_

MARSTON, A. Thin-layer chromatography with biological detection in phytochemistry. *Journal of Chromatography A* [en línea], 2011, **1218**(19), Planar Chromatography, 2676–2683 [Consulta: 10 enero 2020]. ISSN 0021-9673. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967310017620>

MARTÍNEZ, José. Xantina oxidasa [en línea], 2000, [Consulta: 15 enero 2020]. Disponible en: https://www.academia.edu/31138889/Xantina_oxidasa

MENDOZA, et al. Xantina oxidoreductasa, propiedades, funciones y regulación de su expresión genética [en línea], 2005, 11. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v24n2/ibi07205.pdf>

MENSOR, et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research* [en línea], 2001, **15**(2), pp.127–130 [Consulta: 20 enero 2020]. ISSN 1099-1573. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.687>

MIRANDA, 2002. *Métodos de Análisis de Drogras y extractos. Farmacognosia-Productos Naturales.*

MONTERO, María. Los Radicales Libres y las Defensas Antioxidantes. Revisión. *Anales de la Facultad de Medicina* [en línea], 1996, **57**(4), pp.278–281 [Consulta: 20 enero 2020]. ISSN 1025-5583, 1609-9419. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6292953>

MONTOYA, et al. ACTIVIDAD ANTIOXIDATIVA DE ALGUNOS EXTRACTOS VEGETALES. *VITAE Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* [en línea], 2003, (Colombia) **10**(2), pp.72-79. [Consulta: 12 diciembre 2019]. ISSN 0121-4004.

MÜLLER, et al. A New Bioautographic Screening Method for the Detection of Estrogenic Compounds. *Chromatographia* [en línea], 2004, **60**(3), pp.207–211 [Consulta: 17 enero 2020]. ISSN 1612-1112. Disponible en: <https://doi.org/10.1365/s10337-004-0315-8>

NAKAGAWA, et al. Transfer of “Pseudomonas riboflavina” (Foster 1944), a Gram-Negative, Motile Rod with Long-Chain 3-Hydroxy Fatty Acids, to *Devosia riboflavina* gen. nov., sp. nov., nom. rev. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, [en línea], 1996, (Japan) **46**(1), pp.16–22 [Consulta: 20 enero 2020]. ISSN 1466-5026,. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-46-1-16>

NAQUI, et al. Reactive oxygen intermediates in biochemistry. *Annual Review of Biochemistry* [en línea], 1996, (United States) **55**, pp.137–166. ISSN 0066-4154. Disponible en: <https://doi:10.1146/annurev.bi.55.070186.001033>

NISHINO, et al. Mechanism of the Conversion of Xanthine Dehydrogenase to Xanthine Oxidase IDENTIFICATION OF THE TWO CYSTEINE DISULFIDE BONDS AND CRYSTAL STRUCTURE OF A NON-CONVERTIBLE RAT LIVER XANTHINE DEHYDROGENASE MUTANT. *Journal of Biological Chemistry* [en línea], 2005, (Canada) **280**(26), pp.24888–24894 [Consulta: 16 enero 2020]. ISSN 0021-9258, 1083-351X. Disponible en: <http://www.jbc.org/content/280/26/24888>

NUNES, et al. Ascorbic acid of cowpea seeds under saline stress. *Journal of Seed Science* [en línea], 2019, (Brasil) **41**(4), pp.441–451 [Consulta: 20 enero 2020]. ISSN 2317-1537. Disponible en:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S231715372019000400441&lng=en&nrm=iso&tlng=en

OLIVEIRA, G.L. *Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão.* [en línea], 2015, [Consulta: 17 enero 2020]. Disponible en: <https://br.123dok.com/document/eqongpmy-determinacao-da-capacidade-antioxidante-de-produtos-naturais-in-vitro-pelo-metodo-do-dpph-estudo-de-revisao.html>

OLSON, et al. The Mechanism of Action of Xanthine Oxidase. *Journal of Biological Chemistry* [en línea], 1974, (United States) **249**(14), pp.4363–4382 [Consulta: 16 enero 2020]. ISSN 0021-9258, 1083-351X. Disponible en: <http://www.jbc.org/content/249/14/4363>

OXILIA, Rosa Mayor. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. *Revista del Instituto de Medicina Tropical* [en línea], 2014, (Paraguay) **5**(2), pp.23-27 [Consulta: 17 enero 2020]. ISSN 19963696. Disponible en: <http://revistas.ins.gov.py/index.php/revistaimt/article/view/181>

PASCUAL, et al. Synovial fluid analysis for diagnosis of intercritical gout. *Annals of Internal Medicine* [en línea], 1999, **131**(10), pp.756–759. ISSN 0003-4819. Disponible en: <https://doi:10.7326/0003-4819-131-10-199911160-00007>

PEÑA, et al. Absorbancia y reflectancia de hojas de Ficus contaminadas con nanopartículas de plata. *Revista mexicana de física* [en línea], 2019, (Meico) **65**(1), pp.95–105 [Consulta: 20 enero 2020]. ISSN 0035-001X. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0035-001X2019000100095&lng=es&nrm=iso&tlng=es

PEREZ, Fernando; & LIOTÉ, Frédéric. Lowering serum uric acid levels: what is the optimal target for improving clinical outcomes in gout? *Arthritis and Rheumatism* [en línea], 2007, **57**(7), pp.1324–1328. ISSN 0004-3591. Disponible en: <https://doi:10.1002/art.23007>

PÉREZ, et al. Reacción adversa por alopurinol. Reporte de un caso. *Archivo Médico Camagüey* [en línea], 2014, **9**(5) [Consulta: 16 enero 2020]. ISSN 1025-0255. Disponible en: <http://www.revistaamc.sld.cu/index.php/amc/article/view/2942>

PFAFFENBACH, Magnus; & GAICH, Tanja. The Rhazinilam-Leuconoxine-Mersicarpine Triad of Monoterpenoid Indole Alkaloids. In: *The Alkaloids: Chemistry and Biology* [en línea], 2017, B.m.: Elsevier, s. pp.1–84 [Consulta: 17 enero 2020]. ISBN 978-0-12-811124-6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1099483116300189>

PIACHAM, et al. A polymer supported manganese catalyst useful as a superoxide dismutase mimic. *Chemical Communications* [en línea], 2003, (Thailand) 11, pp.1254–1255 [Consulta: 17 enero 2020]. ISSN 1364-548X. Disponible en: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2003/cc/b301683h>

PORTO, et al. Bioactive Alkaloids from South American Psychotria and Related Species. *The Open Bioactive Compounds Journal* [en línea], 2009, (Brasil) 2(1), pp.29–36 [Consulta: 15 enero 2020]. ISSN 1874-8473. Disponible en: <https://openbioactivecompoundjournal.com/VOLUME/2/PAGE/29/9>

PUCE. *Libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador* [en línea], 2018, [Consulta: 10 enero 2020]. Disponible en: <https://bioweb.bio/floraweb/librorrojo/home>

RAHALISON, et al. A bioautographic agar overlay method for the detection of antifungal compounds from higher plants. *Phytochemical Analysis* [en línea], 1991, 2(5), pp.199–203 [Consulta: 19 enero 2020]. ISSN 1099-1565. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pca.2800020503>

RAMALLO, et al. A rapid TLC autographic method for the detection of xanthine oxidase inhibitors and superoxide scavengers. *Phytochemical analysis*: [en línea], 2006, *PCA*. 17(1), 1 pp.5–19. ISSN 0958-0344.

RINCÓN, Armando. LA FAMILIA RUBIACEAE EN LOS BOSQUES TROPICALES HÚMEDOS DE MONTAÑA DE LA CHINANTLA, OAXACA: DIVERSIDAD DE ESPECIES Y DISTRIBUCIÓN [en línea], 2011, [Consulta: 14 enero 2020]. Disponible en: https://www.academia.edu/25566938/LA_FAMILIA_RUBIACEAE_EN_LOS_BOSQUES_TROPICALES_H%C3%9AMEDOS_DE_MONTA%C3%91A_DE_LA_CHINANTLA_OAXACA_DIVERSIDAD_DE_ESPECIES_Y_DISTRIBUCI%C3%93N

RIZZI, Menico; & SCHINDELIN, Hermann. Structural biology of enzymes involved in NAD and molybdenum cofactor biosynthesis. *Current Opinion in Structural Biology* [en línea], 2002, 12(6), pp.709–720. ISSN 0959-440X. Disponible en: [https://doi:10.1016/s0959-440x\(02\)00385-8](https://doi:10.1016/s0959-440x(02)00385-8)

RODRÍGUEZ PERÓN, et al. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Revista Cubana de Medicina Militar* [en línea], 2001, 30(1), pp.15–20 [Consulta: 16 enero 2020]. ISSN 0138-6557. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0138-65572001000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es

ROJANO, et al. Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. [en línea], 2012, **17**, pp.408–419.

ROOK, et al. A simple method for the solubilisation of reduced NBT, and its use as a colorimetric assay for activation of human macrophages by γ -interferon. *Journal of Immunological Methods* [en línea], 1985, **82**(1), pp.161–167 [Consulta: 20 enero 2020]. ISSN 0022-1759. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022175985902352>

RUS, Diana. *Papel regulador de la enzima xantina oxidasa en el proceso apoptótico. Estudio en glándula mamaria de rata.* [en línea], 2005, [Consulta: 04 diciembre 2019]. Ph.D. Thesis. Universitat de València. Disponible en: <http://www.tdx.cat/handle/10803/9900>

SAAG, Kenneth; & CHOI, Hyon. Epidemiology, risk factors, and lifestyle modifications for gout. *Arthritis Research & Therapy* [en línea], 2006, (USA) **8**(1), pp.1-7 ISSN 1478-6362. Disponible en: <https://doi:10.1186/ar1907>

SECRETARIA TECNICA PLANIFICA ECUADOR. *Plan Nacional de Desarrollo 2017 – 2021 Toda una vida* [en línea], 2018, [Consulta: 10 enero 2020]. Disponible en: <https://www.planificacion.gob.ec/plan-nacional-de-desarrollo-2017-2021-toda-una-vida/>

SCHUMACHER, et al. Effects of febuxostat versus allopurinol and placebo in reducing serum urate in subjects with hyperuricemia and gout: a 28-week, phase III, randomized, double-blind, parallel-group trial. *Arthritis and Rheumatism* [en línea], 2008, **59**(11), pp.1540–1548. ISSN 0004-3591. Disponible en: <https://doi:10.1002/art.24209>

SILVA, et al. Phytochemical study and anti-inflammatory effect of *Psychotria stenocalyx* (Rubiaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science* [en línea], 2017, (Brasil) **7**(4), pp.168-173. [Consulta: 15 enero 2020]. ISSN 22313354. Disponible en: http://www.japsonline.com/abstract.php?article_id=2239

SINGH, Thokchom; & SINGH, Okram. Recent Progress in Biological Activities of Indole and Indole Alkaloids. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* [en línea], 2017, **18**(1) [Consulta: 15 enero 2020]. Disponible en: <http://www.eurekaselect.com/154723/article>

SMITH, et al. Flowering Plants of the Neotropics: Bignoniaceae. In: *FLOWERING PLANTS OF THE NEOTROPICS* [en línea], 2004, (USA): Princeton University Press, s. pp.51–53. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/235957343_Flowering_Plants_of_the_Neotropics_Bignoniaceae

SOLER, et al. *An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs - Soler-Rivas - 2000 - Phytochemical Analysis - Wiley Online Library* [en línea], 2000, [Consulta: 17 enero 2020]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/1099-1565%28200009/10%2911%3A5%3C330%3A%3AAID-PCA534%3E3.0.CO%3B2-G>

TERÁN, Jeremy. DIVERSIDAD DE LA FAMILIA RUBIACEAE EN EL PARQUE NACIONAL CARRASCO (Limbo Palmar y Guacharos) [en línea], 2006, 104. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos-pdf/diversidad-familia-rubiaceae/diversidad-familia-rubiaceae.pdf>

TORRES, R; & GARCÍA, J. Disfunción endotelial e hiperuricemia: papel de la enzima xantina oxidasa. *Revista Clínica Española* [en línea], 2002, **202**(10), pp.549–551 [Consulta: 16 enero 2020]. ISSN 0014-2565. Disponible en: [https://doi:10.1016/S0014-2565\(02\)71141-7](https://doi:10.1016/S0014-2565(02)71141-7)

TORRES-OSORIO, et al. Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en la producción in vitro de embriones mamíferos. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* [online], 2019, (Colombia) **10**(2), pp.433–459 [Consulta: 08 enero 2020]. ISSN 2448-6698, 2007-1124. Disponible en: <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/4652>

TROPICOS. *Psychotria poeppigiana* [en línea], 2009, [Consulta: 16 enero 2020]. Disponible en: <https://www.tropicos.org/>

TURRENS, Julio. Fuentes intracelulares de especies oxidantes en condiciones normales y patológicas. *Antioxid. calid. vida* [en línea], 1994, pp.16–9 [Consulta: 17 enero 2020]. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-215683>

VALOIS-CUESTA, et al. Patrones de diversidad de plantas en un gradiente de baja elevación en el Chocó, Colombia, usando especies indicadoras (Rubiaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad* [en línea], 2016, (Colombia) **87**(4), pp.1275–1282 [Consulta: 15 enero 2020]. ISSN 18703453. Disponible en: <http://revista.ib.unam.mx/index.php/bio/article/view/1574>

VALVERDE, Mariela; & CALDERÓN, Kenneth. Actualización en manejo de hiperuricemia/crisis aguda de gota. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica* [en línea], 2011 **68**(597), 183–187 [Consulta: 20 enero 2020]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=31529>

WALLACE, et al. Increasing prevalence of gout and hyperuricemia over 10 years among older adults in a managed care population. *The Journal of rheumatology.* [en línea], 2004 **31**, pp.1582–7.

WAYNER, et al. Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. The important contribution made by plasma proteins. *FEBS letters* [en línea], 1985, **187**(1), pp.33–37. ISSN 0014-5793. Disponible en: [https:// doi:10.1016/0014-5793\(85\)81208-4](https://doi:10.1016/0014-5793(85)81208-4)

WILSON, Liza; & SASEEN, Joseph J. Gouty Arthritis: A Review of Acute Management and Prevention. *Pharmacotherapy* [en línea], 2016, **36**(8), pp.906–922. ISSN 1875-9114. Disponible en: <https://doi:10.1002/phar.1788>

YANG, et al. Chemical Constituents of Plants from the Genus *Psychotria*. *Chemistry & Biodiversity* [en línea], 2016. **13**(7), pp.807–820 [Consulta: 15 enero 2020]. ISSN 1612-1880. Disponible en: <https://doi:10.1002/cbdv.201500259>

ZAPPI, Daniela. Neotropical Rubiaceae - Neotropikey from Kew. *KEW ROYAL BOTANIC GARDENS* [en línea], 2000, [Consulta: 15 enero 2020]. Disponible en: <http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Rubiaceae.htm>

ZINI, et al. Reactive oxygen species in semen of infertile patients: levels of superoxide dismutase- and catalase-like activities in seminal plasma and spermatozoa. *International Journal of Andrology* [en línea], 1993, **16**(3), pp.183–188. ISSN 0105-6263. Disponible en: <https://doi:10.1111/j.1365-2605.1993.tb01177.x>

ANEXOS

ANEXO A Recolección del material vegetal de *Psychotria poeppigiana*



Arbusto de *P. poeppigiana*, finca TRES HERMANAS, Sucumbíos-Lago Agrio

ANEZO B: Control de calidad de las hojas de *P. poeppigiana*



Molienda de las hojas
de *P. poeppigiana*



Cenizas totales



Cenizas solubles en
agua



Cenizas insolubles en
ácido

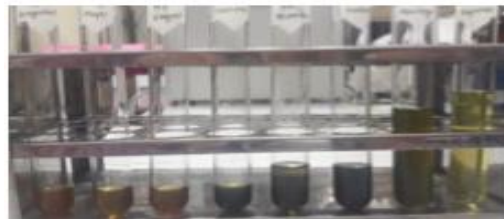
ANEXO C: Tamizaje fitoquímico



Pruebas cualitativas en extracto etéreo



Pruebas cualitativas en extracto alcohólico

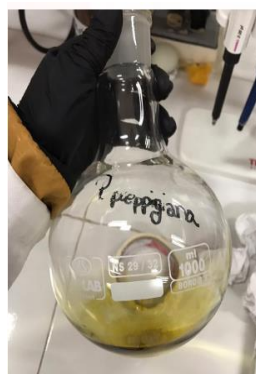


Pruebas cualitativas en extracto acuoso

ANEXO D: Extracción de alcaloides de *P. poeppigiana*



Concentración del extracto alcaloidal



Extracto total de *P. poeppigiana*



Reacción de Dragendorff

ANEXO E: Autografía



Ensayo DPPH·

Sistema
Riboflavina/Luz/NBT



Sistema
NADH/PMS/NBT

Xantina
oxidasa/xantina/NBT



Cromatografía en capa
fina

ANEXO F: Guía de movilización para especímenes de Flora y Fauna para *Psychotria poeppigiana*

Ing. Msc. Irián Pazos Urbano
Ingeniero Ambiental
Instituto Tecnológico Superior de Loja
Código Postal: 210150 / Nueva Loja - Ecuador
Teléfono: 593 62 991-926 Ext. 210150

MINISTERIO DEL AMBIENTE

GOBIERNO DEL ECUADOR

GUIA DE MOVILIZACIÓN

Nro. MAE-DPAS-FLO-2019-066
Fecha de emisión: Nueva Loja, 27 de Noviembre del 2019 a las 14:49.
Fecha de movilización: 28 de Noviembre de 2019 08:00 Válido hasta: 29 de Noviembre del 2019 08:00.

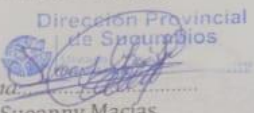
La Dirección Provincial de Sucumbios, Autoriza a: Pazos Paredes Mario Edgar de Nacionalidad Ecuatoriano con número de cédula N° 0200469781, para la movilización de muestras botánicas: desde la provincia de Sucumbios hasta el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Provincia de Chimborazo, ciudad de Riobamba, donde se dará continuidad con el proyecto, las muestras se movilizaran vía terrestre en transporte privado, camioneta Chevrolet Iuv D-Max de placa TBD-5042 de acuerdo a la siguiente lista y detalles:

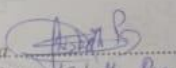
DATOS DE LAS ESPECIES						
No.	Sitio de Muestreo	Código de Campo	Orden/Familia	Nombre científico	Estado	Cantidad
1	Dureno	S/N	Rubiaceae	Psychotria poeppigiana	Muestra pura	1 muestra de 20 hojas
					TOTAL	1

Observaciones:
Las muestras serán transportadas en vehículo privado, camioneta Chevrolet Iuv D-Max de placa TBD-5042.

Los especímenes van en calidad de:
Investigación (086)
Investigación MAE-DNB-CM-2018-0086
Nombre de la Investigación: "Estudio de la Biodiversidad en el Ecuador, ecología, conservación y su potencial uso sostenible"

Dirección Provincial de Sucumbios

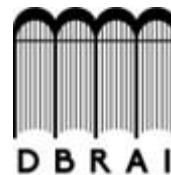
Firma: 
Ing. Sueanny Macías
Biodiversidad - Vida Silvestre
Dirección de Ambiente de Sucumbios

Firma: 
Nombre: Kisheth Pazos Urbano
Ci: 910090691-9
BENEFICIARIO

Dirección Provincial de Sucumbios • Código Postal: 210150 / Nueva Loja - Ecuador • Teléfono 593 62 991-926 Ext. 210150
Dirección: Av. Circunvalación y Vía Aguarico Edificio del Centro de Atención Ciudadana Primer



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS PARA
EL APRENDIZAJE Y LA INVESTIGACIÓN
UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS



REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 26/ 02 / 2020

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
LISBETH MADELEY PAZOS URBANO
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
FACULTAD: CIENCIAS
CARRERA: BIOQUÍMICA Y FARMACIA
TÍTULO A OPTAR: BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA
a. Analista de bibliotecas responsable: