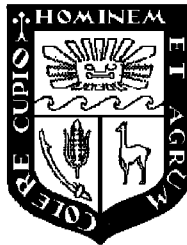


UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

*Facultad de Ciencias Forestales*



**Cuantificación de Polifenoles en hojas  
de Uña de gato *Uncaria tomentosa*  
(Willd. ex Schult) DC. proveniente de  
tres localidades en Ucayali.**

*Tesis para optar el Título de*  
**INGENIERO FORESTAL**

**Ruth Sandra Romero Paucar**

Lima – Perú  
2012

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos para calificar la sustentación del Trabajo de Tesis, presentado por la ex-alumna de la Facultad de Ciencias Forestales, Bach. RUTH SANDRA ROMERO PAUCAR, intitulado “CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES EN HOJAS DE UÑA DE GATO *UNCARIA TOMENTOSA (WILLD. EX SCHULT) DC.* PROVENIENTE DE TRES LOCALIDADES EN UCAYALI.”.

Oídas las respuestas a las observaciones formuladas, lo declaramos:

.....

con el calificativo de .....

En consecuencia queda en condición de ser considerada APTA y recibir el título de INGENIERO FORESTAL.

La Molina, 8 de Junio de 2011

.....  
Dr. Héctor Enrique Gonzáles Mora  
Presidente

.....  
Ing. Carlos Fernando Bulnes Soriano  
Miembro

.....  
Lic. Elvito Fabián Villegas Silva  
Miembro

.....  
Lic. Deysi Rocio Guzmán Loayza  
Patrocinador

.....  
Dr. Gilberto Domínguez Torrejón

## RESUMEN

Uña de gato (*Uncaria tomentosa Willd ex Schult. D.C*), de la familia Rubiaceae, es un bejuco del cual se utiliza, tradicional y comercialmente, la corteza en diversos poblados de la Amazonia peruana y otras partes de América del Sur: debido a sus acciones antiinflamatorias, antimicrobianas, inmunoestimulantes, antioxidante, etc.

La presente investigación tuvo como objetivo la cuantificación de polifenoles totales presentes en las hojas de “uña de gato” *Uncaria tomentosa* de un mismo clon establecido en tres localidades de procedencia del departamento de Ucayali.

El material botánico se recolectó en noviembre de 2009, en las localidades de Tres de Octubre, El Porvenir y Nuevo Ucayali, correspondiente a los distritos de Padre Abad, Irazola y provincia Coronel Portillo, distrito de Ucayali. Con las muestras de hojas se realizó una extracción por el método de percolación utilizando como solvente una solución hidroalcohólica en una relación 1:25 de hojas y solvente. Los extractos obtenidos fueron sometidos a pruebas cualitativas (marcha fitoquímica), en las que se detectaron metabolitos como: alcaloides, compuestos grasos, flavonoides, azúcares, taninos condensados y saponinas, y cuantitativas que permitieron determinar el contenido de polifenoles en el extracto y el porcentaje de taninos condensados presentes en las muestras.

Para la cuantificación de polifenoles totales se empleó espectrofotometría Uv-visible mediante el Método de Folin-Ciocalteu y se obtuvo la mayor concentración de dichos metabolitos en las muestras de hojas de *Uncaria tomentosa* provenientes de Nuevo Ucayali: 6,47 ppm, mientras que para El Porvenir fue de 3,99 ppm y para Tres de Octubre 2,24 ppm. También se cuantificó taninos condensados utilizando el Método del Número de Stiasny, el cual presento resultados con la misma tendencia, siendo las muestras de Nuevo Ucayali las de mayor contenido de taninos condensados 31,84% mientras que para El Porvenir fue de 30,51% y para Tres de octubre 26,26%.

# ÍNDICE

	Página
DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTOS.....	IV
RESUMEN.....	V
ÍNDICE.....	VI
LISTA DE CUADROS.....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	X
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1 CARACTERÍSTICAS DE LA FAMILIA RUBIACEAE. ....	3
2.1.1 <i>Importancia de la familia Rubiaceae</i> .....	5
2.1.2 <i>Distribución de la familia Rubiaceae</i> .....	7
2.1.3 <i>La familia Rubiaceae en América tropical</i> .....	7
2.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA UÑA DE GATO .....	8
2.2.1 <i>Descripción de la especie</i> .....	8
2.2.2 <i>Distribución natural y hábitat</i> .....	12
2.2.3 <i>Especies a las que puede estar asociada</i> .....	13
2.2.4 <i>Usos de <b>Uncaria tomentosa</b></i> .....	13
A) Etnofarmacología.....	13
B) Etnobotánica .....	13
C) Muebles.....	14
2.2.5 <i>Antecedentes de estudios químicos sobre <b>Uncaria tomentosa</b></i> .....	14
2.2.6 <i>Acciones terapéuticas de <b>Uncaria tomentosa</b></i> .....	16
a) <i>Acción Inmunoestimulante</i> .....	16
a. <i>Terapia Antibacterial</i> .....	17
b. <i>Terapia Antiviral</i> .....	17
b) <i>Acción Antiinflamatoria</i> .....	18
c) <i>Contraindicaciones de la <b>Uncaria tomentosa</b></i> .....	19
2.3 METABOLITOS SECUNDARIOS .....	20
2.3.1 <i>Clasificación de metabolitos secundarios en las plantas</i> .....	20
2.3.2 <i>Biosíntesis de los metabolitos secundarios</i> .....	21
2.3.3 <i>Función de los metabolitos secundarios en las plantas</i> .....	22
2.4 COMPUESTOS AROMÁTICOS.....	23
2.4.1 <i>Derivados del Ácido Shikímico</i> .....	24
2.5 COMPUESTOS FENÓLICOS.....	26
2.5.1 <i>Compuestos fenólicos sencillos y sus estructuras poliméricas</i> .....	27
2.5.2 <i>Biosíntesis de compuestos fenólicos</i> .....	28
2.5.3 <i>Función de compuestos fenólicos en las plantas</i> .....	30
A. <i>Toxicidad</i> .....	30
B. <i>Alelopatía</i> .....	30
C. <i>Protección contra el daño provocado por la luz ultravioleta</i> .....	31
D. <i>Respuesta fisiológica de defensa en las plantas</i> .....	32
2.5.4 <i>Identificación y Aislamiento de Compuestos fenólicos</i> .....	32
2.5.5 <i>Taninos</i> .....	33
2.5.5.1. <i>Clasificación de los taninos</i> .....	34
A. <i>Hidrolizables (galotaninos y elagitaninos)</i> .....	34
B. <i>Condensados</i> .....	36

2.5.5.2. Función de los taninos .....	37
2.5.5.3. Actividad farmacológica de los taninos .....	39
2.5.5.4. Acción biológica de los taninos .....	41
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>42</b>
3.1 LUGAR DE MUESTREO .....	42
3.2 MATERIALES Y EQUIPOS .....	43
3.2.1 <i>Materiales e insumos</i> .....	43
3.2.2 <i>Equipos</i> .....	45
3.3 METODOLOGÍA .....	45
3.3.1 <i>Preparación de la muestra</i> .....	45
Obtención de la muestra .....	45
Almacenamiento y conservación.....	48
3.3.2 <i>Ensayos físicos</i> .....	50
Ensayo de humedad.....	50
Porcentaje de cenizas totales.....	50
Ensayo de solubilidad.....	51
Preparación del extracto.....	52
Caracterización del extracto.....	53
3.3.3 <i>Tamizaje Fitoquímico</i> .....	53
3.3.4 <i>Cuantificación de fenoles totales</i> .....	55
Procedimiento .....	55
Determinación de la curva estándar .....	55
Desarrollo de color.....	55
3.3.5 <i>Cuantificación de taninos condensados por el Número de Stiasny</i> .....	56
3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL .....	57
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>58</b>
4.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LAS HOJAS .....	58
4.1.1 <i>Análisis de Humedad</i> .....	58
4.1.2 <i>Contenido de cenizas totales</i> .....	59
4.1.3 <i>Grado de solubilidad</i> .....	61
4.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS.....	62
COMPUESTOS GRASOS.....	63
AZÚCARES .....	63
ALCALOIDES.....	63
QUINONAS .....	65
SAPONINAS .....	66
TANINOS.....	67
FLAVONOIDES.....	68
4.3 ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DE LOS EXTRACTOS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> .....	69
4.4 CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES. MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEU .....	69
4.5 CUANTIFICACIÓN DE TANINOS CONDENSADOS. NÚMERO DE STIASNY .....	73
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>76</b>
<b>6. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>77</b>
<b>ANEXO 1 .....</b>	<b>84</b>
DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> EN EL PERÚ.....	84
<b>ANEXO 2 .....</b>	<b>85</b>
MAPA DE UBICACIÓN DE LAS PARCELAS EXPERIMENTALES DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> EN EL DEPARTAMENTO DE UCAYALI.....	85
<b>ANEXO 3 .....</b>	<b>86</b>

<b>MAPA SEGÙN TIPO DE SUELO DE LAS PARCELAS EXPERIMENTALES.....</b>	<b>86</b>
<b>ANEXO 4 .....</b>	<b>87</b>
ANÁLISIS DE SUELOS DE LAS LOCALIDADES DE NUEVO UCAYALI, EL PORVENIR Y TRES DE OCTUBRE. ....	87
<b>ANEXO 5 .....</b>	<b>88</b>
PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO DE HUMEDAD GRAVIMÉTRICA. ....	88
<b>ANEXO 6 .....</b>	<b>89</b>
PROCEDIMIENTO PARA CONTENIDO DE CENIZAS TOTALES .....	89
<b>ANEXO 7 .....</b>	<b>90</b>
PROCEDIMIENTO PARA EL ENSAYO DE SOLUBILIDAD.....	90
<b>ANEXO 8 .....</b>	<b>91</b>
ANOVA PARA LA HUMEDAD GRAVIMÉTRICA ENTRE LAS MUESTRAS DE HOJAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> DE LAS DIFERENTES LOCALIDADES. ....	91
<b>ANEXO 9 .....</b>	<b>92</b>
ANOVA PARA CENIZAS TOTALES ENTRE LAS MUESTRAS DE HOJAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> DE LAS DIFERENTES LOCALIDADES.....	92
<b>ANEXO 10.....</b>	<b>93</b>
ANOVA PARA LA CONCENTRACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES EXPRESADOS EN PPM DE ÁCIDO TÁNICO.....	93
<b>ANEXO 11.....</b>	<b>94</b>
PRUEBA DE DUNCAN <sup>À</sup> PARA LA CONCENTRACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES EXPRESADOS EN PPM DE ÁCIDO TÁNICO.....	94
<b>ANEXO 12.....</b>	<b>95</b>
TABLA DE ABSORBANCIAS Y CONCENTRACIONES DE ACIDO TÁNICO OBTENIDAS PARA LAS MUESTRAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> .....	95
<b>ANEXO 13.....</b>	<b>97</b>
TABLA DE DISTRIBUCIÓN F DE FISHER.....	97

## Lista de cuadros

	Página
<b>CUADRO 1</b> SISTEMA PROVISIONAL DE CLASIFICACIÓN DE LA FAMILIA RUBIACEAE .....	5
<b>CUADRO 2</b> CARACTERÍSTICAS GEOGRÁFICAS Y CLIMÁTICAS DE LOS LUGARES DE PROVENIENCIA DE LAS MUESTRAS DE <i>UNCARIA</i> <i>TOMENTOSA</i> .....	42
<b>CUADRO 3</b> CONTENIDO DE HUMEDAD GRAVIMÉTRICA EN HOJAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> .....	58
<b>CUADRO 4</b> CONTENIDO DE CENIZAS TOTALES EN <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> .....	60
<b>CUADRO 5</b> RESULTADOS DEL ENSAYO DE SOLUBILIDAD.....	61
<b>CUADRO 6</b> TAMIZAJE FITOQUÍMICO EN EXTRACTOS DE HOJAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> .....	62
<b>CUADRO 7</b> ENSAYOS FÍSICO-QUÍMICOS EN LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> .....	69
<b>CUADRO 8</b> TEST DE LINEALIDAD PARA EL ÁCIDO TÁNICO .....	71
<b>CUADRO 9</b> PORCENTAJE DE TANINOS CONDENSADOS .....	73
<b>CUADRO 10</b> ANOVA PARA EL CONTENIDO DE TANINOS CONDENSADOS (%) .....	74
<b>CUADRO 11</b> PRUEBA DE DUNCAN <sup>A</sup> PARA EL CONTENIDO DE TANINOS CONDENSADOS.....	74

## Lista de figuras

Página

<b>FIGURA 1</b>	UBICACIÓN TAXONÓMICA DE LA FAMILIA RUBIACEAE DE ACUERDO AL SISTEMA PROPUESTO POR AGP II (2003). MODIFICADO DE FREIRE (2004).....	4
<b>FIGURA 2</b>	RAMA DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> (ZAVALA, 1995).....	9
<b>FIGURA 3</b>	DIVERSAS PARTES DE LAS FLORES Y RAMA DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> (FUENTE: ZAVALA, 1995).....	10
<b>FIGURA 4</b>	NÚMERO DE ARTÍCULOS CIENTÍFICOS SOBRE LAS DIFERENTES ACCIONES TERAPÉUTICAS DE “UÑA DE GATO” <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> (FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA.).....	16
<b>FIGURA 5</b>	ESQUEMA DE LA BIOSÍNTESIS DE METABOLITOS SECUNDARIOS (VANACLOCHA, 2003).....	22
<b>FIGURA 6</b>	BIOFORMACIÓN DEL ÁCIDO SHIKÍMICO Y COMPUESTOS ANÁLOGOS. (MARCANO & HASEGAWA, 2002).....	24
<b>FIGURA 7</b>	DERIVADOS DEL ÁCIDO SHIKÍMICO. (MARCANO & HASEGAWA, 2002).....	25
<b>FIGURA 8</b>	COMPUESTOS FENÓLICOS SENCILLOS (MARCANO & HASEGAWA, 2002).....	28
<b>FIGURA 9</b>	ESQUEMA DE LA BIOSÍNTESIS DE FENOLES A PARTIR DE LA FENILALANINA (TAIZ & ZEIGER, 2007).....	29
<b>FIGURA 10</b>	TANINOS HIDROLIZABLES (MARCANO & HASEGAWA, 2002).....	36
<b>FIGURA 12</b>	PLANTA DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> EN LA ZONA DE COLECCIÓN. ....	46
<b>FIGURA 13</b>	COLECCIÓN DE LA MUESTRA DE HOJAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> . ....	47
<b>FIGURA 14</b>	SECADO Y SEPARACIÓN DE LAS HOJAS Y RAMAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> .....	48
<b>FIGURA 15</b>	MUESTRAS DE LAS HOJAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> DESPUÉS DEL SECADO EN ESTUFA. ....	50
<b>FIGURA 16</b>	MUESTRAS DE HOJAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> CARBONIZADAS PARA CALCULAR EL CONTENIDO DE CENIZAS TOTALES. 51	
<b>FIGURA 17</b>	PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO DE SOLUBILIDAD PARA HOJAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> .....	51
<b>FIGURA 18</b>	EXTRACTOS DE HOJAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> A DIFERENTES SOLUBILIDADES UTILIZADOS EN EL ENSAYO DE SOLUBILIDAD. ....	52
<b>FIGURA 19</b>	PORCENTAJE DE HUMEDAD GRAVIMÉTRICA PROMEDIO DE LAS HOJAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> .....	59
<b>FIGURA 20</b>	. PORCENTAJE PROMEDIO DE CENIZAS TOTALES EN LAS HOJAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> .....	61
<b>FIGURA 21</b>	PRESENCIA DE COMPUESTOS GRASOS LUEGO DEL REACTIVO DE SUDÁN .....	63
<b>FIGURA 22</b>	REACCIÓN DE PRECIPITACIÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES CON EL REACTIVO DE DRAGENDORFF .....	64
<b>FIGURA 23</b>	REACCIÓN PARA IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES CON EL REACTIVO DE MAYER.....	64
<b>FIGURA 24</b>	COLORACIÓN DE LA REACCIÓN EN EL ENSAYO DE WAGNER.....	65
<b>FIGURA 25</b>	COLORACIÓN ROJIZA EN LA FASE ACUOSA PARA EL ENSAYO DE BORNRÄGER EN LOS EXTRACTOS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> .....	66
<b>FIGURA 26</b>	ESPUMA EN LOS EXTRACTOS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> .....	66
<b>FIGURA 27</b>	REACCIÓN DE COLORACIÓN POR EL REACTIVO: FeCl <sub>3</sub> .....	67
<b>FIGURA 28</b>	FORMACIÓN DE PRECIPITADO POR EL ENSAYO DE LA GELATINA.....	68
<b>FIGURA 29</b>	COLORACIÓN EN EL ENSAYO DE SHINODA .....	69
<b>FIGURA 30</b>	EXTRACTOS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> DE LAS DIFERENTES LOCALIDADES. ....	70
<b>FIGURA 31</b>	DESARROLLO DEL COLOR DE LA SUSTANCIA REFERENCIA (ÁCIDO TÁNICO) POR ACCIÓN DEL REACTIVO DE FOLIN- CIOALTEU PARA OBTENER LA CURVA DE CALIBRACIÓN.....	70
<b>FIGURA 32</b>	CURVA DE CALIBRACIÓN CON ESTÁNDAR DE ÁCIDO TÁNICO .....	71
<b>FIGURA 33</b>	GRÁFICO DE CAJAS PARA LA CONCENTRACIÓN (PPM) DE POLIFENOLES TOTALES EN HOJAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> . 72	
<b>FIGURA 34</b>	FORMACIÓN DE PRECIPITADO LUEGO DE LA HIDRÓLISIS PARA LA DETERMINACIÓN TANINOS CONDENSADOS EN HOJAS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> POR EL NÚMERO DE STIASNY.....	73
<b>FIGURA 35</b>	COMPARACIÓN DEL CONTENIDO (%) DE TANINOS CONDENSADOS DE EXTRACTOS DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> OBTENIDOS POR EL MÉTODO DEL NÚMERO DE STIASNY. ....	75



## 1. INTRODUCCIÓN

El género *Uncaria* es una fuente importante de productos naturales medicinales, particularmente por el contenido de alcaloides y triterpenos. Durante los últimos 20 años, los alcaloides, triterpenos, glicósidos de ácido quinóico, flavonoides y cumarinas, han sido aislados de este género. La especie identificada con un mayor número de compuestos es la “uña de gato” *Uncaria tomentosa* de Perú (Heitzman y Neto, 2005)

*Uncaria tomentosa* (Willd.) D.C., ha sido parte de diversas investigaciones en centros especializados de Austria (Universidad de Graz, Innsbruck), Alemania (Instituto de Biología Farmacéutica de la Universidad de Munich), Italia (Universidades de Nápoles, Salerno, Pavia, Milan), Perú (Universidad Peruana Cayetano Heredia, Universidad Nacional Mayor de San Marcos) y en las Universidades Nacional de Ucayali y la Universidad Nacional Agraria de la Selva (con énfasis en aspectos agronómicos), entre otras. De acuerdo a investigaciones se han determinado que esta especie posee propiedades de tipo antiinflamatorio, inmunoestimulante, antioxidante, antimutágena y antivirales.

Aunque los principales compuestos activos, como los alcaloides, han sido estudiados mayormente en la corteza de *Uncaria*, estas pueden también estar presentes en diferentes partes de la planta, como es mencionado por Domínguez (2007). Sin embargo, las propiedades de la uña de gato no se debe exclusivamente a la presencia de alcaloides, existen otros metabolitos secundarios que en conjunto presentan una acción sinérgica las cuales tienen efectos benéficos sobre el organismo humano, como los polifenoles los que constituyen un grupo químico importante que se encuentra presente en muchas plantas medicinales, los cuales no son esenciales para el metabolismo de la planta pero que son sintetizados como mecanismos de defensa y adaptación de la misma y contra la prevención de daños oxidativos (Rice-Evans et al., 1996; Bagchi et al., 2000). Por ello se enfatiza en la importancia del estudio de los diferentes compuestos existentes y no en el aislamiento de un tipo de metabolito. Partiendo de esta hipótesis en el marco del proyecto FINCyT “Estandarización de un extracto seco purificado a partir de hojas de *Uncaria tomentosa* (Willd ex Schult.)DC. con fines de formulación farmacológica” desarrollado en la Universidad Nacional Agraria La Molina, se realizó el estudio en hojas de *Uncaria tomentosa* proveniente de plantaciones experimentales

que fueron establecidas en tres localidades de la ciudad de Ucayali las que presentan diferentes condiciones de hábitat; utilizando vitroplantas de un mismo clon, con el objetivo de contribuir al conocimiento fitoquímico de hojas de *Uncaria tomentosa Willd ex. Schult D.C* mediante la determinación de metabolitos secundarios. Asimismo, cuantificar y establecer las diferencias en el contenido de polifenoles de hojas de *Uncaria tomentosa* provenientes de un clon establecido en tres localidades.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

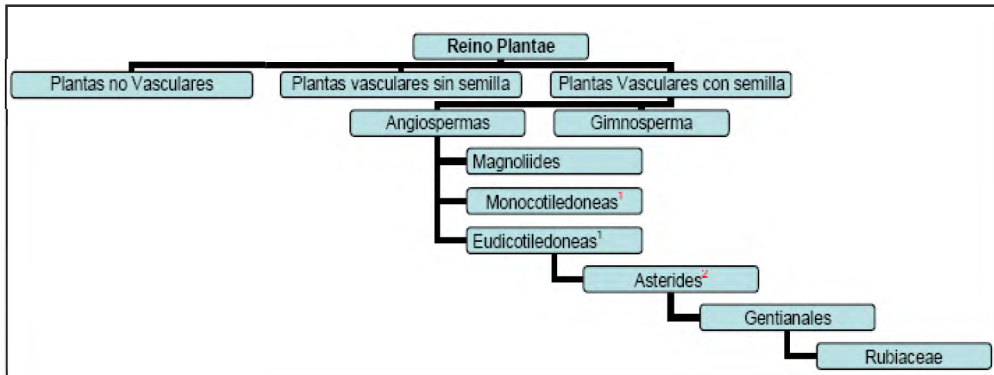
Las Plantas producen una gran variedad de compuestos orgánicos que no están directamente involucrados en los procesos metabólicos primarios de crecimiento y desarrollo (Taiz & Zeiger, 2007) Los roles que estos productos naturales o metabolitos secundarios cumplen en las plantas vienen siendo recientemente apreciados en el contexto analítico. La familia Rubiaceae es una de las familias que agrupa a un gran número de plantas productoras de metabolitos secundarios que pueden tener actividad biológica. Además agrupa a géneros de los cuales uno de los más importantes es el género *Uncaria*.

El género *Uncaria* es un género de 34 especies, distribuidas en regiones tropicales como el Sudeste de Asia, África y América del Sur. Dos especies de este género con gran arraigo en la población peruana, durante los últimos años, son denominadas comúnmente como “uña de gato”, botánicamente determinadas como: *Uncaria tomentosa* (Willd.) D.C. y *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmel., descritas y utilizadas tradicionalmente para usos medicinales por algunos grupos étnicos de la selva peruana como los Aguaruna, Asháninka, Cashibo, Conibo y Shipibo (Duke, 2008).

### 2.1 CARACTERÍSTICAS DE LA FAMILIA RUBIACEAE.

El origen etimológico del nombre de la familia, proviene del latín “ruber” que significa rojo” y que se refiere al colorante rojo que se extrae de la especie asiática *Rubia tinctorum* (Hyam & Pankhurst, 1995).

Actualmente con el incremento de estudios moleculares filogenéticos realizados por un equipo de investigadores estadounidenses y europeos Angiosperm Phylogeny Group, 1998 y 2003 (APG 1998; APG II 2003), a nivel taxonómico eliminan el Orden rubiales con su única familia Rubiaceae, ordenando de mejor manera el trabajo realizado por Cronquist, (1981; 1982). Incluyen a la familia Rubiaceae en el Orden monofilético de las Gentianales (Fukarek et al., 1994) (Figura 1).



**Figura 1** Ubicación taxonómica de la familia Rubiaceae de acuerdo al sistema propuesto por AGP II (2003). Modificado de Freire (2004).

La familia Rubiaceae es relativamente fácil de reconocer, a simple vista, pero su clasificación a nivel de géneros y especies es muy difícil (Bremen *et al.*, 1995).

La clasificación de la familia Rubiaceae está en estado de flujo constante Robbrecht (1988 a), propone una clasificación comprensiva reconociendo cuatro sub familias (Rubioidae, Antirrhoideae, Ixoroideae, y Cinchonoideae) y 44 tribus.

Mientras las reestructuraciones drásticas han sido recientemente propuestas para niveles de subfamilias y tribus. La clasificación Robbrecht (1988 a), todavía usa los tratamientos mundiales y presenta un sistema provisional moderno y más natural, para sub familias, tribus y géneros (Cuadro 1).

**Cuadro 1** Sistema provisional de clasificación de la familia Rubiaceae

Sub familia	Tribu	Sub tribu	Género
<b>Cinchonoideae</b>	Cinchoneae	Cinchoninae	<i>Calycophyllum, Capiroa, Cinchona, Exoterna, Macrocnemum, Manettia.</i>
		Mitragyninae	<i>Uncaria</i>
	Rondeletieae		<i>Simira</i>
	Sipaneeae		<i>Sipanea</i>
	Condamineae		<i>Condaminea, Pogonopus</i>
	Iserlia		<i>Gonzalagunia, Sabicea</i>
<b>Ixoroideae</b>	Gardenieae	Gardeniinae	<i>Alibertia, Duroia, Genipa, Posoqueria, Randia, Sphinctanthus, Tocoyena</i>
		Pavetteae	<i>Ixora</i>
	Coffeae		<i>Coffea</i>
<b>Antirheoideae</b>	Guettardeae		<i>Chomelia, Guettarda, Machaonia, Malanea</i>
	Chiococceae		<i>Chiococca</i>
	Cephalantheae		<i>Cephalanthus</i>
<b>Rubiodeae</b>	Coccocypseleae		<i>Coccyzium</i>
	Hamelieae		<i>Hamelia, Hoffmannia</i>
	Psychotriaceae		<i>Geophila, Palicourea, Psychotria, Rudgea</i>
	Coussareae		<i>Coussarea, Faramia</i>
	Paederieae		<i>Paederia</i>
	Anthospermeae	Coprosminae	<i>Nertera.</i>
	Spermacoceae		<i>Spermacoce, Diodia, Emmeorhiza, Galfanthe, Mitracarpus, Richardia, Spermacoce, Staelia.</i>
Rubieae		<i>Galium.</i>	

Fuente: Robbrecht, 1988.

### 2.1.1 IMPORTANCIA DE LA FAMILIA RUBIACEAE.

Muchas Rubiáceas producen alcaloides que se encuentran normalmente acumulados en la corteza, raíces, hojas, flores, frutas, semillas y polen. De los 70 géneros neotropicales tenemos: *Antirhea, Cinchona, Coutarea, Capiroa, Bothriospora, Borreria, Exoterna, Ferdinandusa, Genipa, Hedyotis, Hillia, Ladenbergia, Pogonopus, Palicourea, Psychotria, Rimijia, Spermacoce, Tocoyena, Uncaria* y otros, la mayoría pertenecen a la tribu Cinchonoideae, que producen quinina (Delprete, 2004). Hasta 1970 se han detectado 156 diferentes alcaloides (Raffauf, 1970), actualmente esta cifra ha debido incrementarse.

El café es el mayor producto económico de las Rubiaceae. *Coffea* es un género de aproximadamente 100 especies, nativa de África, Madagascar e Islas de la India, las especies cultivadas *Coffea arabica* y *C. robusta* son originarias del este de África. La familia es una de las fuentes primarias de productos naturales (medicina, alucinógenos y venenos). Muchos géneros de Cinchoneae (*Cinchona*, y *Ladenbergia*) son fuentes de quina, el único remedio para

la malaria hasta que se puso disponible la droga sintética. La malaria es responsable de gran número de muertes en la historia humana especialmente en los países tropicales del mundo (Delprete, 2004).

EL género *Pogonopus* y varios otros son las fuentes de compuestos activos de pruebas y actividad anticancerígena, eso involucra la inhibición de la formación de micro túbulos durante la división celular. La especie *Morinda citrifolia* (el noni) ha recibido atención considerable recientemente por sus propiedades medicinales que reduce la presión alta de la sangre y sirve como un agente anticancerígeno. El género *Uncaria* (uña de gato), tiene numerosos reportes de usos medicinales por médicos naturistas en el Perú (Delprete, 2004).

Los extractos de corteza de la especie *Pausynistalia yohimbe*, una liana originaria de África es la fuente de un potente afrodisíaco. *Psychotria viridis* y especies relacionadas son usadas en importantes ingredientes en la producción de alucinógenos (ayahuasca en la Amazonía) (Andersson, 1992).

Varias especies de los géneros *Psychotria* y *Palicourea* son plantas venenosas responsables para la parálisis del ganado y muerte en América Tropical, muchos géneros arbóreos de Rubiaceae son usados para la construcción de casas y botes (*Calycophyllum*, *Simira*, *Chimarrhis*, *Parachimarrhis* y *Capirona*). Varios géneros de la tribu *Gardenieae* produce frutas comestibles grandes, *Genipa* (llamado genipapo en Brasil y caruto en Venezuela y el bi en Bolivia) es cultivado por su fruto que se come fresco o prepara jugo y además una bebida alcohólica, un extracto de los frutos verdes de *G. americana* es usado para hacer un tinte negro para colorear tela y también como pintura para el cuerpo de los integrantes de las tribus indígenas (Robbrecht, 1988 b).

La especie *Borojoa patonoi* (= *Alibertia* sp) es un árbol cultivado en Colombia (el choco) por sus frutas carnosas, (borojo) que se comen frescos y se hace un jugo usado como afrodisíaco, *B sorbilis* es bien conocido en la Amazonía occidental por sus frutas grandes, deliciosas (llamado huito en Perú, purui en Brasil) (Delprete, 2004).

### 2.1.2 DISTRIBUCIÓN DE LA FAMILIA RUBIACEAE

Es la cuarta familia más grande de plantas (después de Asteraceae, Orchidaceae y Fabaceae). Con aproximadamente 650 géneros y 13.000 especies alrededor del mundo. El género más grande es *Psychotria*, cuenta con 1.700 especies en todo el mundo (Delprete, 2004).

Las Rubiaceae son de distribución cosmopolita y predominantemente pan tropical. Casi la mitad de las especies y un tercio de los géneros son neo tropicales y están adaptados virtualmente a cada hábitat. Las Rubiaceae son especialmente diversas en la Amazonía, los bosques de niebla de los Andes, cerrado, catanga, páramo y bosques del atlántico de Brasil, en los que son un importante componente del sotobosque (Andersson, 1995).

### 2.1.3 LA FAMILIA RUBIACEAE EN AMÉRICA TROPICAL.

En América tropical son aproximadamente 317 géneros y más de 5 000 especies. Un reciente listado provisional fue publicado por Andersson (1992), pero considerando las inmensas áreas todavía inexploradas en el Neo trópico (especialmente la Amazonia y bosques del Atlántico de Brasil) es probable que el número de taxa aumente.

Los géneros más grandes en el Neo trópico son: *Psychotria* (600 especies), *Palicourea* (230), *Rudgea* (220), *Faramea* (200), *Rondeletia* (200), *Guettarda* (140), *Manettia* (130), *Coussorea* (120), *Sopermacoce* incluyendo a *Borreria* (180), *Randia* (90), *Chomelia* (75), *Galium* (incluyendo *Relbunium* 60), *Ixora* (50), *Notopleura* (73), *Sabiceae* (55), *Alibertia* (incluyendo *Borojoa* 180), *Simira* (45), *Gonzalagunia* (40), y *Mitracarpus* (40). (Tezen, 2008)

## 2.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA UÑA DE GATO

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Sub-Clase	:	Asteridae
Orden	:	Rubiales
Familia	:	Rubiaceae
Género	:	Uncaria
Especie	:	tomentosa
Nombre Científico	:	<i>Uncaria tomentosa (Willd. ex Schult) DC.</i>
Sinónimos Botánicos	:	<i>Nauclea tomentosa (Willd. ex Schult) DC.</i> <i>Nauclea oculateata H.B.K.</i> <i>Ourouparia tomentosa (Willd) Schumann.</i>

Nombres Comunes:

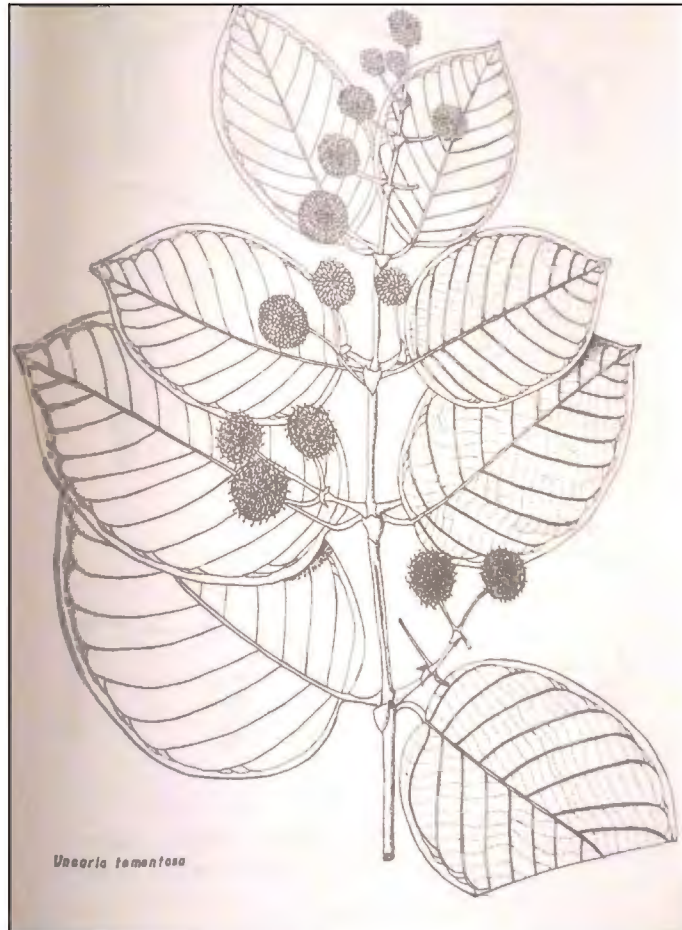
En Perú: Uña de gato o uña de gato de altura, garabato, garabato colorado (por el color de la corteza), garabato amarillo, uña de gavilán, ajagke, bejuco de agua, Jipotatsa, Kug Kukjaqui, Micho-mentis, Samento, Toroñ, Tsachik, Uncucha, Unganangi, Deixa (zonas fronterizas con Brasil). En Brasil: Cipo De Gato. En Panamá: Rangaya, En Colombia: Tua juncara. (Lombardi & Zevallos, 1999)

### 2.2.1 DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

La Uña de gato (*Uncaria tomentosa Willd*) es un bejuco o liana leñosa que tiene una longitud de 10 a 30 m y con diámetro de bejuco entre 5 a 40 cm en la base. Es exclusivamente trepadora por la forma de las espinas semi curvadas que facilitan su adherencia a la corteza y ramas de



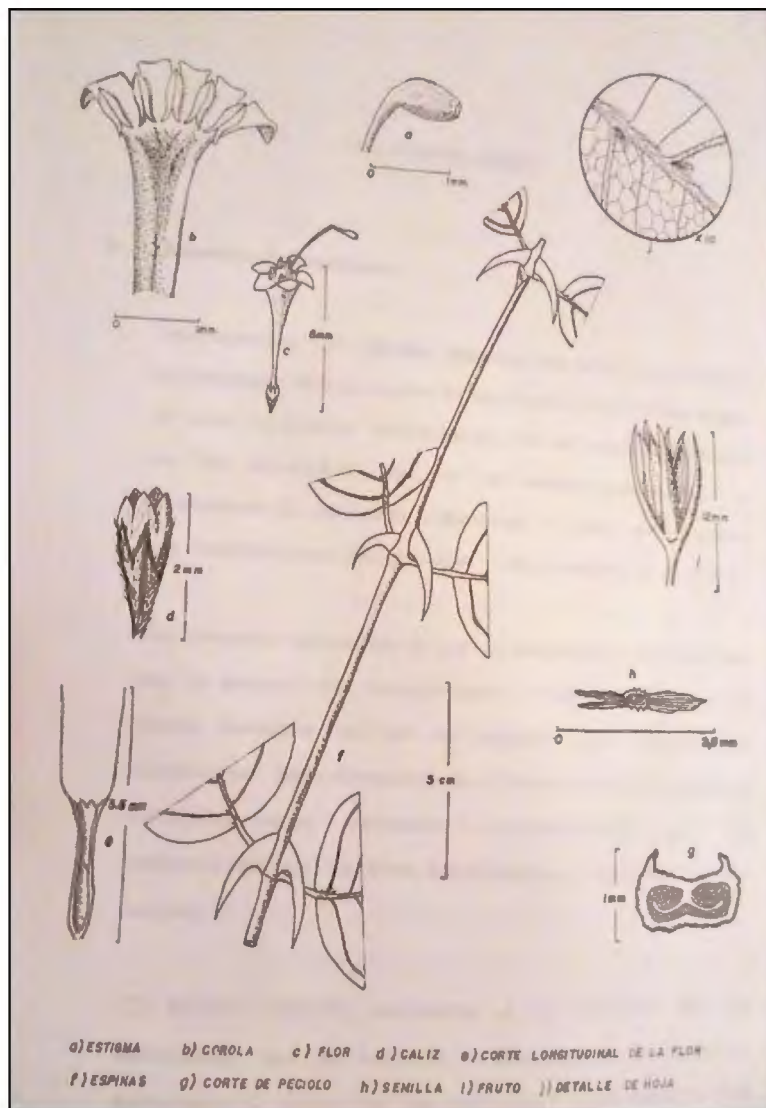
árboles llegando usualmente a poseionarse sobre la copa de árboles de 20 a 30 m de altura. Es una heliófita durable (Lombardi & Zevallos, 1999).



**Figura 2** Rama de *Uncaria tomentosa* (Zavala, 1995)

*Uncaria tomentosa* posee la corteza de color marrón, con fisuras longitudinales en el ritidoma persistente. Su corteza interna es de textura fibro-laminar, ligeramente pulverulenta (polvo característico ferrugíneo color oro) Presenta secreción acuosa de consistencia fluida y sabor astringente. Sus ramas terminales son obtusas de sección cuadrangular, con médula interior, color verde-amarillento, glabra y hojitas en forma de lanza. El tipo de hojas que presenta son simples, opuestas y dísticas, con forma de limbo: oblonga, oblongo-aovada o elíptica- aovada, láminas aovadas u aovado-oblongas de 7,5 a 17 cm de longitud y de 5 a 12 cm de ancho; de borde entero, ligeramente sinuado; con ápice agudo, raramente acuminado; base redonda y/o

cordada; de consistencia membranosa; de nervadura del tipo pinnatinervia oblicua, nervios secundarios de 8 a 10 pares (Figura 2); color verde opaco en el haz y verde pálido en el envés, de peciolo ligeramente tomentoso (con pequeñísimos y finos vellos) de 8- 28 mm de longitud y 1,2 - 2,5 de ancho. Presenta estípulas interpeciolares de forma deltoide con longitud de 6 - 12mm y ancho de 4 - 8mm. Con un par de espinas curvo- rectas y puntiagudas de consistencia leñosa y de longitud de 8 a10mm y ancho de 3 - 6mm (Zavala, 1995)



**Figura 3** Diversas partes de las flores y rama de *Uncaria tomentosa* (Fuente: Zavala, 1995)

Su inflorescencia es compuesta en racimos o cimas de cabezuelas globosas (capítulo) con disposición axilar y/o terminal, cuya longitud de inflorescencia es de 7 - 18cm y diámetro de 1,5 - 2,5cm., con pedúnculo tomentoso de 15 - 35 mm de longitud y 1 - 1,5 mm de diámetro. (Zavala, 1995)

Sus flores (Figura 3) hermafroditas, actinomorfas y sésiles; con cáliz gamosépalo de forma tubular con longitud de 1- 1,5 mm y diámetro de 0,8 - 1 mm, su borde con 5 lóbulos en punta y presencia de pubescencia (pelos vellosos, largos en los bordes de los dientes y más largos en la base). Su corola gamopétala en forma Infundibuliforme, de 7 - 13 mm de longitud y 3 - 5 mm de diámetro con de 5 lóbulos redondos en el borde de color amarillo, con exterior densamente pubescente e interior inconspicuo. Su androceo está formado de estambres sésiles, epigineos, alternipétalos; con anteras oblongas con bases prolongadas divergentes, de longitud 1 - 1,2 mm y ancho de 0,3 - 0,4 mm. Su gineceo está conformado por estigma elipsoide de 0,5 mm de longitud, estilo lineal, exerto de hasta 4 mm de longitud con un ovario ínfero, bicarpelar, bilocular, sincárpico, de placentación axial. (Zavala, 1995)

El fruto es seco, dehiscente, de tipo cápsula y de forma elíptica con una longitud de 5 - 8 mm y un ancho de 3 - 6 mm, su dehiscencia es longitudinal y septicida. Sus semillas son numerosas, fusiformes con alas membranosas; de 2,5 - 3,5 mm de longitud y de 0,5 a 0,8 mm de ancho. (Obregón, 1995; Zavala, 1995)

*Uncaria tomentosa* (Willd.) D.C, no tiene una arquitectura definida; se encuentra asociada con mayor frecuencia con las especies cumala (Myristicaceae) y zapote (Bombacaceae) (Quinteros, 2001).

Su escasa regeneración encontrada en un diámetro de 20 m indica una baja viabilidad de las semillas al estado natural, lo que limita a la especie a un escaso número de individuos por hectárea (3 a 8). Esto se debe posiblemente a factores limitantes de luz y vientos, así como a productividad de frutos y semillas y época fenológica (periodo de lluvias). Estos son factores importantes que limita a toda semilla alada de ser diseminada por el viento debido a que permanecen adheridas al fruto por la alta humedad. (Quevedo, 1995)

## 2.2.2 DISTRIBUCIÓN NATURAL Y HÁBITAT

La uña de gato se encuentra en forma natural en el bosque húmedo tropical del continente americano: Panamá, Nicaragua, Guyanas, Surinam, Costa Rica, Belice, Guatemala, Honduras, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, hasta el sur de Brasil y Bolivia, entre los 75 y debajo de los 1 118 m.s.n.m. (Lombardi & Zevallos, 1999). Su presencia es común en áreas disturbadas de los bosques, de las riberas de los ríos entre 300 y 1000 m.s.n.m. En la Amazonia Peruana (**Anexo 1**) se puede encontrar en Loreto, Madre de Dios, Ucayali, San Martín, Cusco, Pasco y Junín. [(Ríos Mauro, 2002), (Zavala, 1995), (Lombardi & Zevallos, 1999)]

Puede considerársela típica de bosques primarios levemente intervenidos (Zavala, 1995), ya sea por la extracción selectiva de especies maderables comerciales, muerte natural o intervención atmosférica, eventos que permiten la entrada de los rayos solares hacia el suelo, oportunidad aprovechada por las semillas para germinar. En Regiones como Loreto y Ucayali se encuentra habitualmente en "restingas" que son terrenos inundables temporalmente en crecientes de los ríos amazónicos (Quevedo, 1994).

*Uncaria tomentosa* se desarrolla frecuentemente en terrenos altos y colinas con suelos de buen drenaje; preferentemente orgánicos como los suelos en las regiones de selva. A diferencia de *Uncaria guianensis* que es más habitualmente encontrada en terrenos planos o ligeramente ondulados con suelos mal drenados (Zavala y Zevallos 1996)

*Uncaria tomentosa* es heliófita durable, pero a diferencia de *Uncaria guianensis*, es la única que se encuentra cerradas en los bosques naturales maduros, o bosques ligeramente perturbado (Quevedo, 1995; Zavala y Zevallos 1996). La especie también se encuentra junto a ríos grandes y pequeños. Por otro lado, Duke (1994) cuestiona esta limitación a más vegetación cerrada de *Uncaria tomentosa* de acuerdo con él, esta especie es la única que se encuentran en las tierras bajas de Panamá, Honduras, Guatemala, Costa Rica y Belice. Se reporta que puede convertirse en un problema de maleza en plantaciones bananeras en Centroamérica (Standley y Williams, 1975).

*Uncaria tomentosa* llega a estado adulto con una longitud entre 10 y 30 m, y un diámetro de la base entre 5 - 40 cm. Esta especie tiene espinas que le permiten subir a 20 - 30m en la vegetación acompañante (Quevedo, 1995).

En el bosque natural *Uncaria tomentosa* tiene una densidad de dos a ocho individuos adultos hectáreas. El bajo número de individuos es más probable como consecuencia de las limitadas oportunidades de las plántulas a crecer en condiciones de sombra (Quevedo, 1995). Por otro lado, Pro Naturaleza realizó inventarios con los habitantes yanasha en Loma Linda del valle Palcazú donde se encontraron 17 individuos por hectárea (Arce, 1996).

### 2.2.3 ESPECIES A LAS QUE PUEDE ESTAR ASOCIADA

Puede encontrarse asociada a diferentes especies como: Huayruro (*Ormosia sp.*), marupá (*Simarouba amara*), lupuna (*Chorisia sp.*), shihuahuaco (*Dypterix alata*), tacho (*Terminalia oblonga*), cumala amarilla (*Iryanthera sp.*), banderilla roja (*Jacaranda sp.*), cedro (*Cedrela odorata*), caoba (*Swietenia macrophylla*), roble amarillo (*Terminalia tarapotensis*), tornillo (*Cedrelinga cateniformis*), capirona (*Calycophyllum spruceanum*), balata (*Poutueria sp.*), entre otras (Zavala, 1995).

### 2.2.4 USOS DE *Uncaria tomentosa*

#### A) ETNOFARMACOLOGÍA

Ha sido usada por las comunidades: Aguaruna, Asháninka, Cashibo, Conibo y Shipibo al menos desde hace 2 000 años. (Duke, 2008)

Obregón (1995) menciona que es utilizada en la medicina tradicional contra:

- Procesos antiinflamatorios diversos: artritis, artrosis, gastritis, inflamaciones dérmicas y en vías genito-urinarias, asma, úlcera gástrica, diabetes, diversas tumoraciones, enfermedades degenerativas: cáncer, procesos virales, irregularidades del ciclo menstrual, gonorrea, disentería.

#### B) ETNOBOTÁNICA

Algunos grupos étnicos usan como refresco el líquido transparente (semejante al agua en sus características externas, sin embargo presenta un sabor amargo) que se desprende al cortar transversalmente el tallo fresco, éste les quita el cansancio y el hambre. (Obregón, L. 1995)

También se usan las raíces, corteza y hojas en diversos preparados:

- Corteza cocida o macerada, algunas etnias le atribuyen propiedades afrodisiacas.
- Infusiones de hojas, usados con menor frecuencia.
- Tintes de raíz o corteza, usualmente combinados con otras plantas, como: chuchuhuasi, sangre de drago y ayahuasca. Se le atribuyen propiedades reconstituyentes.

### C) MUEBLES

Se ha reportado el uso en la elaboración de muebles a partir de productos forestales no maderables en la Provincia de Maynas, Iquitos. Los bejucos de uña de gato se utilizan para construir la estructura del mueble o armazón, éstos se colectan con un diámetro aproximado a 6 cm, posteriormente son descortezados y secados, luego se uniforma el diámetro en una máquina tarugueadora hasta obtener una sección de 5 cm de diámetro, se colocan las piezas en moldes ablandando la fibra del leño con agua hervida para facilitar el moldeado, permaneciendo allí hasta que se estabilice y endurezca de acuerdo al modelo de la estructura seleccionada. (Baluarte, 2000)

#### 2.2.5 ANTECEDENTES DE ESTUDIOS QUÍMICOS SOBRE *Uncaria tomentosa*.

La investigación química que trata de identificar los "principios activos" responsables de los efectos farmacológicos de cada planta. A través de diversos métodos, se establece la presencia de los mismos.

En la planta de *Uncaria tomentosa* Lock, (1994) reporta los siguientes componentes:

- Alcaloides oxindólicos pentacíclicos (isopteropodina, pteropodina, isomitrafalina, mitrafalina).
- Alcaloides oxindólicos tetracíclicos (rincofilina, isorincofilina).
- Alcaloides oxindólicos (hirsuteína, hirsutina, especiofilina, uncarina F, etc.).
- Glicósidos del ácido quinóvico.
- Triterpenos polihidroxiados.
- Polifenoles (Epicatequina, Procianidinas).

- Esteroles.
- Taninos.
- Flavonoides.
- Saponinas.
- Ácido ursólico y ácido oleanólico.

En 1976, Óscar Schuller lleva a Roma, al Departamento de Farmacología de la Universidad de San Marcos, para el análisis del contenido de alcaloides, señalando como razón principal que se había curado un cáncer terminal tomando uña de gato durante 6 meses. Con base en estas pruebas, Montenegro (1976) y un equipo de investigadores estudiaron los siguientes alcaloides y muestra que además: pteropodina, isopteropodina, especiofilina, isomitrofilina y Uncarina F, como los principales responsables por la cura del cáncer terminal. Existen aún Polifenoles: epicatequina, procianidinas A, B1, B2, B4. (Costa, 2006)

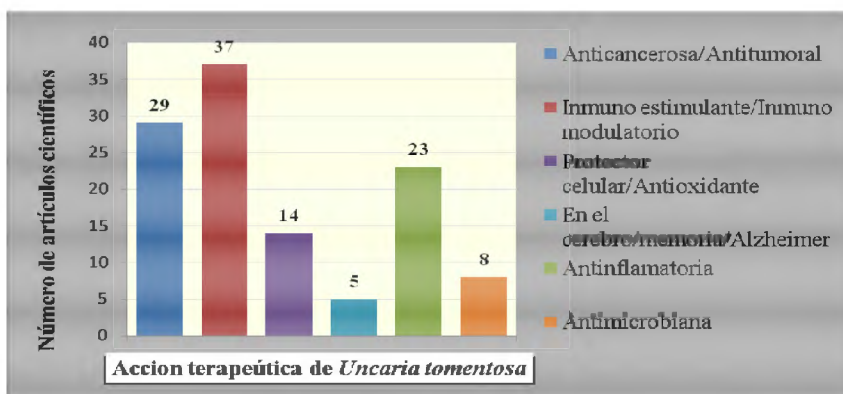
Investigadores científicos en Alemania (Wagner, 1985) identificaron la presencia de alcaloides oxindólicos con propiedades inmunoestimulantes, y los investigadores italianos como Francesco de Simone identificaron los glicósidos del ácido quinóvico con propiedades antiinflamatorias y analgésicas. (Costa, 2006)

Keplinger (1989) patentó 6 alcaloides oxindólicos, extraídos de la raíz de *Uncaria tomentosa*. Son considerados inmunoestimulantes, especialmente la isopteropodina-A.

En el Perú se realizaron investigaciones sobre la acción antiinflamatoria y su simultánea acción protectora contra la formación de úlceras gástricas (Lock, 1994). Sin embargo, también se ha descubierto que la presencia conjunta de alcaloides, glicósidos y otras sustancias activas como los taninos, actúan de manera sinérgica -superior que de manera individual- sobre la estimulación del mecanismo inmunológico. Las propiedades inmunoestimulantes se probaron a través del incremento de la fagocitosis, de la luminiscencia química y del aclaramiento del carbón. La propiedad antiinflamatoria, a través de la prueba de la carragenina (Aquino *et al*, 1986)

Además, se realizaron análisis fitoquímicos a dos tipos de muestras de *Uncaria tomentosa*: una muestra micro pulverizada y una muestra de extracto seco. Los resultados obtenidos de la marcha fitoquímica realizada en la muestra de extracto seco detectó la presencia de: taninos, compuestos fenólicos, además de triterpenos y/o esteroides, saponinas y alcaloides; este resultado se comprobó por una cromatografía de capa delgada. Asimismo, para la muestra micro pulverizada tratada se detectó la presencia de: compuestos fenólicos, flavonoides, triterpenos y/o esteroides y alcaloides. (Lock de Ugaz, 1994)

En la actualidad se han realizado diversas investigaciones sobre la acción terapéutica de *Uncaria tomentosa*, siendo muchas de estas publicadas en diversas revistas científicas de medicina y salud y estando disponibles en bases de datos como PubMed (Figura 4).



**Figura 4** Número de Artículos Científicos sobre las diferentes acciones terapéuticas de “uña de gato” *Uncaria tomentosa* (Fuente: Elaboración propia.)

## 2.2.6 ACCIONES TERAPÉUTICAS DE *Uncaria tomentosa*

### a) Acción Inmunoestimulante.

Para, estudios experimentales in Vitro en animales, paralelamente se aplicó un estudio clínico en el género humano: existe en la sangre una barrera inicial de defensa contra las agresiones de agentes extraños, constituidos por glóbulos blancos que son los Leucocitos junto al ataque microbiano nocivo, con eso ocurre un aumento de la temperatura corporal de 37,5°C, anunciando el inicio de una infección, luego se levanta una segunda barrera más efectiva constituida por elementos mono nucleares, son los: linfocitos T, inmunoglobulinas anti linfocito, obtenida a través de la glándula timo; las células de los linfocitos B, procedentes de la



médula, ambos son secretores de anticuerpos junto al agente invasor e impiden su proliferación. (Costa, 2006.)

De otro lado, se menciona que los monocitos dan lugar a los macrófagos que son fagocitos mono nucleares, que junto con los neutrófilos, matan e ingieren las bacterias en particular los pirógenos. En el laboratorio fue probada también la acción potenciadora de la *Uncaria tomentosa* sobre los macrófagos. (Aquino, 1989)

*a. Terapia Antibacterial*

Potencialmente el sistema inmunológico de defensa de la *Uncaria tomentosa*, cura en muchos casos de enfermedades piroginas. Pudiendo así eliminar amigdalitis infecciosas eliminando las secuelas de la infección.

*b. Terapia Antiviral*

El virus es un microorganismo detectado con microscopios (2000 aumentos), y en microscopios electrónico (1 000 000 aumentos) causante de varias enfermedades, como: neumonía atípica primaria, sarampión, varicela, rubéola, fiebre amarilla, hepatitis, herpes, gripe, resfriado común. Sabemos que un alto grado de inmunidad personal regula algunos casos llevando la cura. En general las acciones antivirales se dan:

- Inhibiendo la multiplicación de los virus.
- Estimulando la acción fagocitaria. Para la mayoría de los medicamentos antineoplásicos inhibe la mitosis, interfiere con el metabolismo de los ácidos nucleicos o promueve trastornos específicos del proceso bioquímico, como inhibición de ciertas reacciones enzimáticas (Zanini-Oga, 1994). Alteraciones hormonales pueden también influenciar el crecimiento de células neoplásicas. Por ejemplo, los esteroides suprarrenales inhiben las células mesenquimales y destruyen linfocitos, suponiendo diversos autores que el estado neoplásico, inhibe las respuestas inmunológicas facilitando la propagación del dolor. (Costa, 2006)

Con eso Peluso (1993), presentó en el 11<sup>vo</sup> Congreso Ítalo-Peruano de Etnomedicina Andina, Lima, Perú “Efecto anti proliferativo en la Célula tumoral del extracto de *Uncaria tomentosa*”.

## b) Acción Antiinflamatoria

La acción antiinflamatoria de *Uncaria tomentosa* se ha descrito en dos aspectos: se probó en el Laboratorio de Farmacología Experimental que los alcaloides, principio activo de la *Uncaria tomentosa*, son responsables de la acción antiinflamatoria, produce multiplicación en la fagocitosis. Su uso durante muchos años tratando infecciones inflamatorias como: artritis, bursitis, prostatitis, amigdalitis, varices, hemorroides, empleadas también en varias inflamaciones articulares, cistitis, gastritis, úlceras gastroduodenales, diabetes, virosis, asma y varias otras enfermedades de origen inflamatorio. En todos los casos se produjo la desaparición del dolor e hinchazón causado por la inflamación o disminuyó la intensidad de la misma (Sandoval, 2002). La duración del tratamiento depende de la recuperación, pudiendo ser prolongadas o no, considerando inflamación como una reacción del tejido vivo vascularizado a una agresión local, lo que caracteriza el proceso inflamatorio es la reacción de los vasos sanguíneos, que conducen la acumulación de líquido y células sanguíneas (Kalant, 1991).

Los signos clínicos de inflamación local son el calor, enrojecimiento, hinchazón y dolor, la pérdida de la función del tejido. Dado que estas señales son inducidas por:

1. Cambio de flujo y calibre vascular
2. Alteración en la permeabilidad vascular.
3. Exudación, leucocitos.

Los mediadores químicos de la inflamación son: Las aminas vasoactivas, (Histamina y Serotonina) y las proteasas plasmáticas como la Bradicina. El proceso inflamatorio puede tener inicio a través de microorganismos invasores, reacciones inmunológicas, deterioro de los tejidos y otros fenómenos mucho menos comprendidos. Se cree que los mediadores de la inflamación pueden conducir al aumento de la liberación de los precursores de los ácidos grasos para la síntesis de prostaglandinas y aumentar su tasa de síntesis. Las prostaglandinas así mismo puede causar una inflamación o una enfermedad inflamatoria o pueden empeorar las ya existentes. (Costa, 2006.)

Los factores piroginos y leucocitosis pueden ser liberados para producir eritema y edema, calor, dolor y deterioro de la función del órgano afectado. Prácticamente cualquier parte del cuerpo

pueden sufrir daños como resultado de un proceso inflamatorio. Uno no puede esperar que las sustancias antiinflamatorias reviertan integralmente la lesión causada, éstas tienen la capacidad de detener el proceso o retardar la progresión de la inflamación. Además, es posible reducir significativamente o eliminar la intensidad del dolor por la capacidad de estas sustancias para inhibir la síntesis de prostaglandinas que con más frecuencia causan vasodilatación periférica con la formación local de eritema y edema, además de disminuir el dolor aumentando la sensibilidad de receptores nerviosos al estímulo. (Costa, 2006.)

c) Contraindicaciones de la *Uncaria tomentosa*

Usos no controlados por el desconocimiento de la dosificación de *Uncaria tomentosa* dieron como resultado las siguientes observaciones:

La Uña de gato clínicamente documentó efectos inmunoestimulantes y está contraindicado su uso por pacientes antes o después de cualquier trasplante de órgano, medula, hueso o trasplante de piel.

La Uña de gato documentó propiedades de anti fertilidad y esta contra indicada en personas que tratan de quedar embarazadas. Sin embargo, este efecto no ha demostrado ser suficiente para que el producto se utilice como un anticonceptivo, y no debe usarse como tal.

La Uña de gato tiene químicos que pueden reducir la agregación plaquetaria y la sangre disminuye. Consulte con su médico si toma medicinas, deje de usar una semana a diez días antes de cualquier procedimiento quirúrgico mayor. También se ha determinado que la corteza de la uña de gato requiere el ácido del estómago para ayudar a descomponer los taninos y alcaloides durante la digestión y ayudar a la absorción de los mismos. Por ello se recomienda no tomar cápsulas de corteza y tabletas antiácidas al mismo tiempo. Asimismo, se ha descrito que altas dosis de uña de gato al mismo tiempo son causantes de un dolor abdominal o problemas gastrointestinales, como diarrea (debido al contenido de tanino de la corteza) en algunas personas. La diarrea o heces sueltas tienden a ser leves y desaparecen con el uso continuo. Suspenda su uso o reducir la dosis si la diarrea persiste por más de tres o cuatro días. (Costa, 2006).

## 2.3 METABOLITOS SECUNDARIOS

Según Marcano y Hasegawa (2002), Los seres vivos son capaces de sintetizar una gran variedad de compuestos que se definen como producto natural o metabolito secundario, se usan como sinónimo, éste es conocido como un producto químico y en la mayoría de casos no tiene utilidad aparente para el ser que lo sintetiza, a diferencia de los metabolitos primarios o también denominados productos bioquímicos que presentan una utilidad definida y son comunes entre todos los seres vivos: carbohidratos, lípidos, proteínas, etc.

Taiz y Zeiger (2007) indican que las plantas producen una gran cantidad y diversidad de compuestos orgánicos que no parecen tener una función directa en el crecimiento y desarrollo. Estas sustancias se conocen con el nombre de metabolitos secundarios, productos secundarios o productos naturales. Éstos metabolitos no tienen una función reconocida o directa en los procesos de fotosíntesis, respiración, transporte de solutos, síntesis de proteínas, asimilación de nutrientes, diferenciación o formación de carbohidratos, proteínas y lípidos. Además, la diferencia entre metabolitos secundarios y metabolitos primarios (aminoácidos, nucleótidos, azúcares, acil lípidos) radica en que tienen una distribución restringida en el reino vegetal. Es decir, un metabolito secundario se encuentra con frecuencia en una sola especie vegetal o grupo de especies relacionadas, mientras que los metabolitos primarios se encuentran en todo el reino vegetal.

### 2.3.1 CLASIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN LAS PLANTAS.

La clasificación de los metabolitos secundarios puede hacerse de acuerdo a sus estructuras, a su bioformación, a la fuente de producción o a su acción biológica. En todos esos casos es inevitable la superposición. Por ejemplo, al ser moléculas polifuncionales generalmente es difícil ubicarlas en un determinado grupo químico o dos compuestos totalmente diferentes tienen la misma acción o la misma fuente de producción puede originar simultáneamente compuestos muy distintos. Aparentemente el criterio más acertado es aquel que usa la biosíntesis como denominador común, la cual, en su esquema básico engloba la formación de metabolitos primarios y secundarios. (Marcano y Hasegawa, 2002).

La ocurrencia de los metabolitos secundarios es principalmente en defensa contra los predadores y patógenos, además para proveer una ventaja reproductiva como atrayente de los

polinizadores y dispersores de semillas. Esto, también, brindan competitivas como veneno para especies rivales. (López Casamayor, 2007)

La mayoría de metabolitos secundarios pueden ser clasificados en tres grupos:

- Terpenoides
- Alcaloides
- Compuestos fenólicos (mayormente fenilpropanoides).

### 2.3.2 BIOSÍNTESIS DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS

La formación de productos naturales comienza con la fotosíntesis. Las rutas biogénicas para vegetales superiores están bastante bien establecidas en la mayoría de casos, pero en el caso de algas y ciertos vegetales inferiores existe una gran variedad de productos oxigenados (además de nitrogenados y azufrados) los cuales son difícilmente ubicados dentro de un determinado camino biogénico como por ejemplo, aquel que siguen las ciclaciones propuestas para la formación de terpenoides y otros metabolitos clásicos. Tales compuestos pueden en realidad ser resultado de sistemas enzimáticos particulares dada una clase de organismos, que incluyen variedades y/o mutantes, que cambian su metabolismo de acuerdo a condiciones ambientales. (Marcano y Hasegawa, 2002).

Se sabe que la concentración de ciertos metabolitos aumenta cuando el vegetal se encuentra en estado de estrés<sup>1</sup>. Las condiciones biométricas: condiciones de laboratorio que tratan de imitar las producidas por el sistema enzimático, pueden representar ese estado de estrés en el organismo vivo y generar ciertos esqueletos no abundantes y a veces específicos para la especie bajo estudio. (Marcano y Hasegawa, 2002).

---

<sup>1</sup> Estrés: cualquier factor ambiental biótico o abiótico que reduce la tasa de algún proceso fisiológico (por ejemplo, crecimiento o fotosíntesis) por debajo de la tasa máxima respecto de la que podría alcanzar. (Lambers y col. 1998).

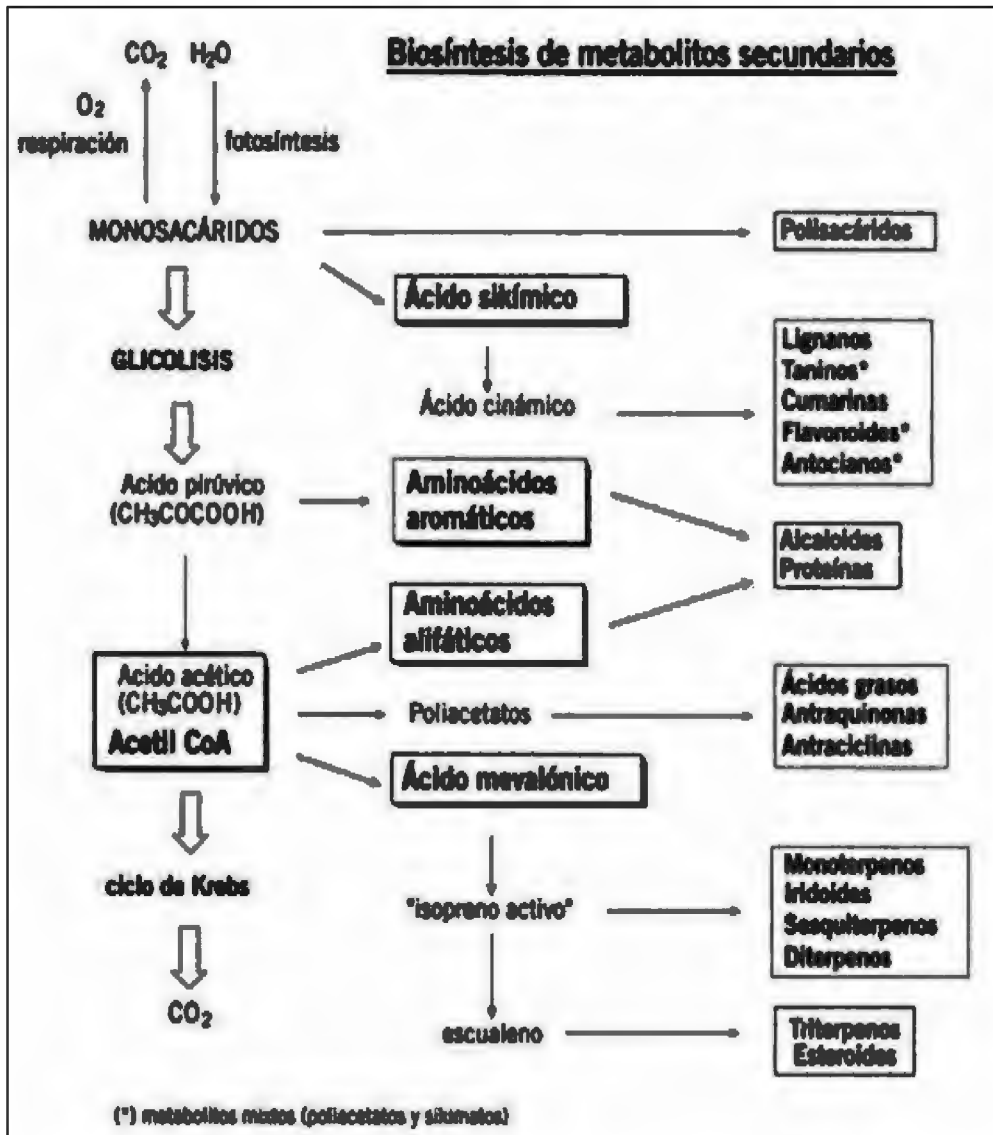


Figura 5 Esquema de la biosíntesis de metabolitos secundarios (Vanaclocha, 2003)

### 2.3.3 FUNCIÓN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS EN LAS PLANTAS

En hábitats naturales, las plantas están rodeadas por un gran número de enemigos potenciales. Casi todos los ecosistemas contienen una amplia variedad de bacterias, virus, hongos, nemátodos, arácnidos, insectos, mamíferos y otros animales herbívoros. Por su naturaleza, las plantas no pueden escapar de los herbívoros y patógenos por lo que deben protegerse de otras formas. (Taiz & Zeiger, 2007)

Durante muchos años, el significado adaptativo de muchos metabolitos secundarios era desconocido. Se creía que estos compuestos eran sencillamente productos finales del metabolismo sin función o metabolitos de desecho. El estudio de estos compuestos fue iniciado por los químicos orgánicos del siglo XIX y los llamaron “productos naturales”, debido a su importancia como drogas, venenos, sabores y materias industriales.

Recientemente, se descubrió que muchos metabolitos secundarios tenían importantes funciones ecológicas en las plantas:

- Proteger a las plantas de la ingestión por herbívoros y de la infección por patógenos microbianos.
- Sirven como atrayentes de polinizadores y dispersadores de semillas y como agentes en la competencia planta-planta.

De acuerdo con los biólogos evolucionistas, las defensas vegetales deben haber surgido a través de los fenómenos de mutación hereditaria, selección natural y cambios evolutivos. Mutaciones al azar en las rutas metabólicas básicas darían lugar a la aparición de nuevos compuestos, que pudieron ser tóxicos o disuasorios para los herbívoros y microbios patógenos. Los metabolitos secundarios además de defender a las plantas de los herbívoros y microbios patógenos, pueden tener otras funciones importantes como la de soporte estructural, en el caso de la lignina, o pigmentos en el caso de las antocianinas. (Taiz & Zeiger, 2007).

## **2.4 COMPUESTOS AROMÁTICOS**

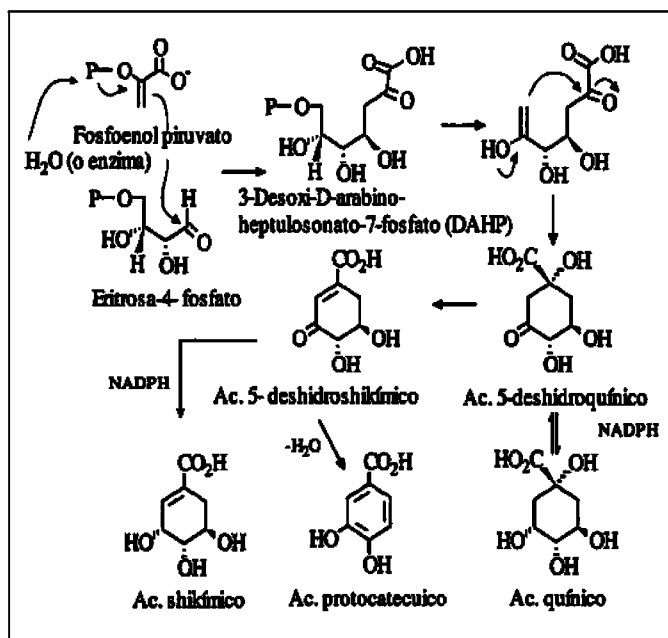
Estos compuestos incluyen derivados simples de benceno, anillos bencénicos condensados, monómeros, dímeros o polímeros de alto peso molecular, como ligninas y taninos, que se encuentran prácticamente en todas las plantas superiores y por ello se les considera productos universales. Generalmente presentan grupos funcionales oxigenados en la mayoría de casos los son fenoles y por los que se les conoce con el nombre genérico de compuestos fenólicos, los cuales engloban una amplia gama de estructuras, siendo las más abundantes los flavonoides y sus derivados, entre los compuestos de bajo peso molecular. (Marcano & Hasegawa, 2002)

A pesar de su diversidad estructural la mayoría de compuestos aromáticos pueden clasificarse desde el punto de vista biogénico, como derivados del acetato (policétidos) y derivados del shikimato. Sin embargo hay que considerar que muchos representantes fenólicos tienen origen mixto (acetato-shikimato); además algunos se forman a partir de ácido mevalónico, tal es el caso de los carotenoides, esteroides y otros terpenos con anillos aromáticos en su esqueleto. (Marcano y Hasegawa, 2002).

Los compuestos fenólicos son más frecuentes en el reino vegetal. (Taiz & Zeiger, 2007)

#### 2.4.1 DERIVADOS DEL ÁCIDO SHIKÍMICO

La glucosa es precursor de los fenilpropanoides a través de un intermediario clave: el ácido shikímico. Este compuesto fue aislado en 1885 de un árbol japonés shikimi-no-ki y su intervención en la bioformación de fenoles naturales fue establecida en 1955. La ruta metabólica que conduce al ácido shikímico involucra un intermediario de 7 átomos de carbono proveniente de la condensación de fosfoenolpiruvato y eritrosa, (Figura 6) (Marcano y Hasegawa, 2002).



**Figura 6** Bioformación del ácido shikímico y compuestos análogos. (Marcano & Hasegawa, 2002)



El ácido shikímico, precursor de ácidos benzoicos sustituidos, se condensa de nuevo con una unidad de fosfoenolpiruvato y produce ácido chorísmico, precursor de los fenilpropanoides (Figura 7). El grupo de fenilpropanoides es el más abundante y comprende además el mayor número de variaciones estructurales que van desde moléculas con esqueletos C6-C3 hasta polímeros, mientras que los derivados del ácido benzoico con esqueletos C6- C1, son reducidos en número y es frecuente encontrarlos como parte de los sustituyentes (por ejemplo ésteres) de otras estructuras. (Marcano & Hasegawa, 2002)

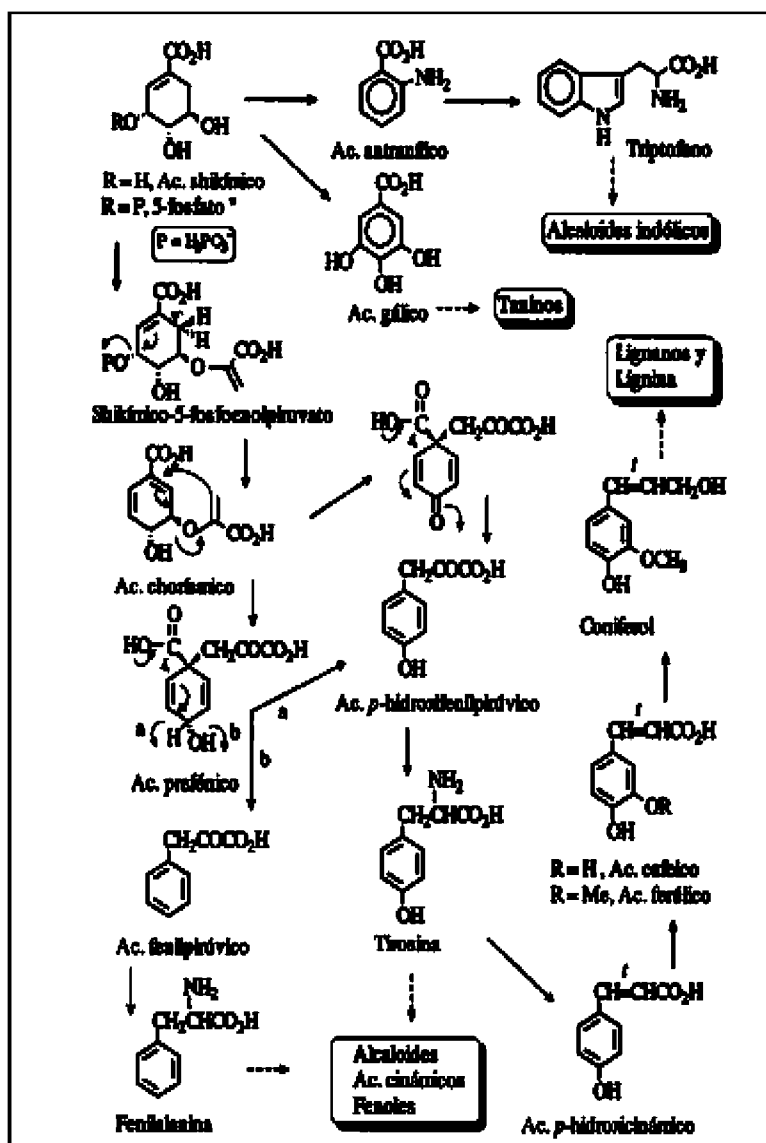


Figura 7 Derivados del ácido shikímico. (Marcano & Hasegawa, 2002)

## 2.5 COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos de las plantas forman un grupo químicamente heterogéneo de unos 10 000 compuestos: algunos solubles sólo en solventes orgánicos, otros son ácidos carboxílicos y glicósidos solubles en agua, mientras que otros son grandes polímeros muy insolubles.

Abarcan un gran número de sustancias que es difícil definir con sencillez. Éstos poseen un anillo aromático directamente unido a al menos un grupo hidroxilo, libre o ligado a otra función, entre ellos tenemos taninos, flavonoides, cumarinas, etc.

Numerosos metabolitos poseen estos elementos, por ello se necesita establecer un criterio biosintético para establecer los límites. (Bruneton, 1991)

Se conocen tres vías para la génesis del núcleo aromático:

- La más corriente es la vía del ácido shikímico.
- Otra vía parte del acetato e implica una ciclación de un poli  $\beta$ -cetoéster.
- La aromatización de compuestos del metabolismo terpénico (la menos conocida).

La mayor parte de éstos son solubles en agua, ya que mayormente se encuentra unidos a azúcares formando glicósidos, normalmente se localizan en las vacuolas (Valencia, 1995).

Los compuestos fenólicos simples están muy extendidos en las plantas vasculares y parecen funcionar de distintas maneras (Taiz & Zeiger, 2007). Sus estructuras incluyen:

- Los fenilpropanoides simples, como el ácido trans-cinámico, el ácido p-cumárico y sus derivados, como el ácido caféico, que tienen un esqueleto carbonado básico tipo fenilpropanoide.
- Las lactonas fenilpropanoides (ésteres cíclicos) llamados cumarinas, también con un esqueleto fenilpropanoide.
- Los derivados del ácido benzoico formado por fenilpropanoides que han perdido un fragmento de la cadena lateral.

Según Marcano & Hasegawa (2002), los fenoles que se encuentran libres generalmente se acumulan en las semillas, frutos y tejidos muertos, a excepción de los compuestos poliméricos como taninos y ligninas; estas últimas están dentro de las células, en asociación íntima con la celulosa formando el tejido sostén de los vegetales superiores.

La mayoría de compuestos fenólicos de bajo peso molecular se presenta en células vivas en forma combinada, generalmente como O-glicósidos. Puede interpretarse entonces, que la glicosación juega un papel importante en la economía de las plantas, pues al aumentar la solubilidad de las agliconas en agua, aquellas aumentan su movilidad en los fluidos acuosos del organismo sintetizador y ello representa un método de almacenar fenoles sin que interfieran en otros procesos metabólicos. (Marcano & Hasegawa, 2002)

De las agliconas<sup>2</sup>, aquellas pertenecientes al grupo de los flavonoides son las más abundantes y en éstas los azúcares están principalmente en C-3(flavonoles y antocianidinas) y unidos al anillo A: O-glicósidos en C-5 y C-7 y C-glicósidos en C-6 y C-8. Menos frecuente se encuentra O-glicosación en 4' y 3'. Eventualmente, los azúcares pueden presentarse unidos covalentemente al C-3 del flavonoide con iones inorgánicos como el sulfato del ácido. La sulfatación aunque poco frecuente, ocurre en cualquiera de los OH tanto del azúcar como de la aglicona, principalmente en las posiciones 3 y 7. Entre los glicósidos también se encuentra esterificación en la unidad del azúcar con los ácidos acético, benzoico, ferúlico, gálico, cumárico, caféico y otros. (Marcano & Hasegawa, 2002)

### 2.5.1 COMPUESTOS FENÓLICOS SENCILLOS Y SUS ESTRUCTURAS POLIMÉRICAS

Entre ellos pueden contarse derivados de fenoles simples: C6, del ácido benzoico: C6-C1, de la acetofenona: C6-C2, y del ácido cinámico (fenilpropano): C6-C3. Hay relativamente pocos fenoles sencillos en la naturaleza y se forman por reacciones de degradación de los fenilpropanoides; algunos se derivan del ácido acético. Los ácidos fenólicos son más frecuentes en las plantas superiores. Para su formación se propone la conversión de los precursores directos: ácido shikímico  $\square$  ácido quinónico, además de la degradación del fenilpropano correspondiente: ácido cinámico y sus derivados.

---

<sup>2</sup> Aglicona o genina es la porción diferente del azúcar que se obtiene por hidrólisis de los glicósidos. (Marcano & Hasegawa, 2002)

	$R_1$	$R_2$	$R_3$	$R_4$	$R_5$	
	H	H	H	OH	OMe	Salicilato de metilo
	H	OH	H	H	OH	Ac. p-hidroxibenzoico
	H	OH	OMe	H	OH	Ac. vanílico
	OH	OH	OH	H	OH	Ac. gálico
	OMe	OH	OMe	H	OH	Ac. sinigólico
	H	OH	OH	H	OH	Ac. protocatecuico
	H	OH	OMe	H	H	Vanilina
	H	OH	OGI	H	Me	Pungénina
	$R_1$	$R_2$				
	H	OH				Eugenol
	OCH <sub>2</sub> O					Misticina
	$R_1$	$R_2$	$R_3$	$R_4$	$R_5$	
	H	OH	H	H	CO <sub>2</sub> H	Ac. p-cumárico
	H	H	H	OH	CO <sub>2</sub> H	Ac. o-cumárico
	H	OH	OH	H	CO <sub>2</sub> H	Ac. cafeico
	H	OH	OMe	H	CO <sub>2</sub> H	Ac. fértilico
	OMe	OH	OMe	H	CO <sub>2</sub> H	Ac. sinápico
	H	OGI	OMe	H	CH <sub>2</sub> OH	Coniferina
	H	OH	OMe	H	CH <sub>2</sub> OH	Alcohol coniferólico
	OCH <sub>2</sub> O	OMe	H	CH <sub>3</sub>		Isonisticina

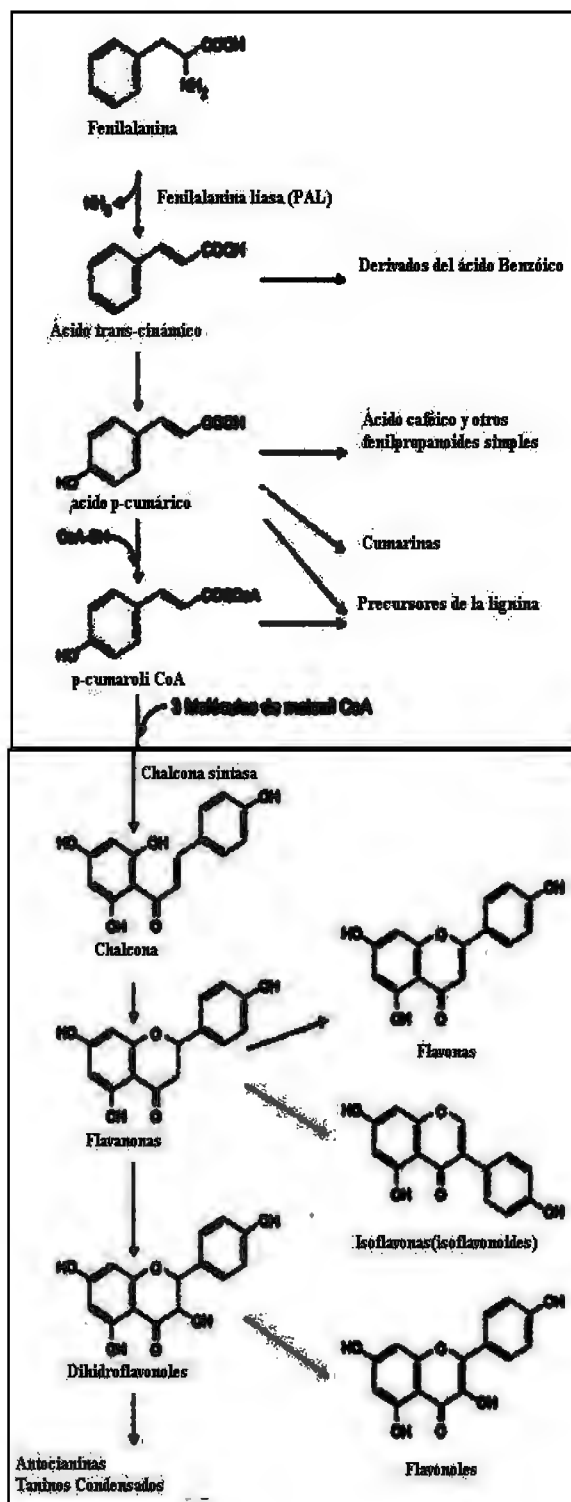
**Figura 8** Compuestos fenólicos sencillos (Marcano & Hasegawa, 2002)

De acuerdo a su diversidad química, los fenoles tienen funciones muy diversas en las plantas como: defensa contra herbívoros o patógenos. Otros participan en el soporte mecánico, en la atracción a polinizadores y dispersantes de frutos, en la absorción de la radiación ultravioleta dañina o en la reducción del crecimiento de las plantas competidoras próximas. (Taiz & Zeiger, 2007).

### 2.5.2 BIOSÍNTESIS DE COMPUESTOS FENÓLICOS.

La biosíntesis de compuestos fenólicos ha sido estudiada extensamente. A parte de las muchas incógnitas por resolver en los pasos individuales de las secuencias biogénicas, hay un gran número de casos donde se ha detectado más de un camino para llegar a un mismo producto fenólico y ello depende del medio biológico sintetizante. (Marcano & Hasegawa, 2002)

Los compuestos fenólicos de las plantas son biosintetizados en diferentes rutas y sus derivados son compuestos fenólicos simples llamados fenilpropanoides por que contienen un anillo de benceno y una cadena lateral de tres carbonos. Los fenilpropanoides son unidades básicas para la formación de compuestos fenólicos más complejos.



**Figura 9** Esquema de la biosíntesis de fenoles a partir de la fenilalanina (Taiz & Zeiger, 2007)

La formación de muchos fenoles vegetales, incluidos los fenilpropanoides simple, cumarinas, derivados del ácido benzóico, ligninas, antocianinas, isoflavonas, taninos condensados y otros flavonoides, se inicia con la fenilalanina.

### 2.5.3 FUNCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN LAS PLANTAS

#### A. Toxicidad

Algunos compuestos fenólicos simples son activados por la luz ultravioleta, estos compuestos no son tóxicos hasta que son activados por la luz. La luz del sol en la región ultravioleta A (UV-A 320 a 400nm) provoca que algunas furanocumarinas pasen al estado electrónico de mayor energía. Las furanocumarinas activadas pueden introducirse en la doble hélice del ADN y unirse a las bases pirimidínicas, citosina y timina, bloqueando así la transcripción y la reparación, provocando la muerte de la célula. (Taiz & Zeiger, 2007)

Algunos insectos se han adaptado a sobrevivir en plantas que sintetizan furanocumarinas y otros compuestos fototóxicos viviendo en telarañas o bien en hojas enrolladas, donde no reciben longitudes de onda activadoras (Sandberg y Berenbaum, 1989)

#### B. Alelopatía

Las plantas liberan al entorno una gran variedad de productos primarios y secundarios por las hojas, raíces y restos que caen al suelo. La investigación de los efectos de estos compuestos en las plantas vecinas es lo que se conoce como alelopatía<sup>3</sup>. Si una planta puede reducir el crecimiento de las plantas por liberación de productos químicos al suelo, puede aumentar su disponibilidad de luz, de agua y nutrientes, por tanto, su ventaja evolutiva. (Taiz & Zeiger, 2007)

Los fenilpropanoides simples y derivados del ácido benzóico son descritos frecuentemente como poseedores de una actividad alelopática. Compuestos como el ácido caféico y el ácido ferúlico se encuentran en el suelo en cantidades apreciables y en experimentos de laboratorio se ha demostrado su papel como inhibidores de la germinación y del crecimiento de muchas plantas (Inderjit y col. 1995)

---

<sup>3</sup> El término alelopatía se ha aplicado a los efectos dañinos de las plantas sobre sus vecinas, aunque la definición precisa incluye también los efectos beneficiosos. (Taiz y Zeiger, 2007)

La importancia de la alelopatía en los ecosistemas naturales es controvertida. Muchos científicos dudan que la alelopatía sea un factor significativo en las interacciones planta- planta, debido a la dificultad de obtener pruebas evidentes de este fenómeno. Es fácil demostrar que extractos o compuestos purificados de una planta pueden inhibir el crecimiento de otra planta en experimentos de laboratorio, pero es muy difícil demostrar que estos compuestos están presentes en el suelo en concentraciones adecuadas como para inhibir el crecimiento. Además, algunas sustancias orgánicas del suelo están con frecuencia unidas a partículas del mismo, por lo que pueden ser degradadas rápidamente por microbios.

A pesar de la falta de evidencias que la apoyen, el gran interés sobre la alelopatía deriva de sus potenciales aplicaciones agrícolas. Puede que, en algunos casos, las reducciones en los rendimientos de las cosechas sean provocadas por la alelopatía de malas hierbas o residuos de un cultivo anterior. (Taiz, Zeiger, 2007)

#### C Protección contra el daño provocado por la luz ultravioleta.

Uno de los mecanismos de adaptación a radiación UV-B más documentado es el aumento de la producción de metabolitos secundarios tales como fenoles y flavonoides, los que se acumulan en las células de la epidermis de diversas especies vegetales, y por ser compuestos que absorben radiación entre los 280-360nm, reducen el efecto deletéreo de la luz UV-B sobre los distintos componentes celulares (Carrasco, Ríos, 2009)

Los dos otros grupos de flavonoides que se encuentran en las flores son las flavonas y los flavonoles. Estos flavonoides generalmente absorben luz a longitudes de ondas más cortas que las antocianinas, por lo que no son visibles para los humanos. Sin embargo, los insectos como las abejas que ven en el rango ultravioleta del espectro, responden a flavonas y flavonoles como señales de atracción. Los flavonoles en una flor suelen formar patrones simétricos de rayas, manchas o círculos concéntricos llamadas guías de néctar (Lunau, 1992). Estos patrones pueden ser visibles para los insectos y ayudan a localizar el polen y el néctar.

Las flavonas y flavonoles no están restringidos a las flores; también están presentes en las hojas de todas las plantas verdes. Estas dos clases de flavonoides protegen a las células del exceso de radiación UV-B (280-320 nm) porque se acumulan en las capas epidérmicas de hojas y tallos y absorben luz intensamente en la región del UV-B permitiendo a la luz visible

(fotosintéticamente activa) penetrar de forma ininterrumpida. Además, la exposición de las plantas a un incremento de la luz UV-B aumenta la síntesis de flavonas y flavonoles.

#### D. Respuesta fisiológica de defensa en las plantas

Se han demostrado numerosas funciones de estos compuestos en las plantas que los sintetizan con fines defensivos. Algunos flavonoides pueden tener un efecto directo sobre el crecimiento de las plantas, mientras que otros pueden proteger los constituyentes celulares más vulnerables de la radiación de la luz UV. Se ha observado que la biosíntesis de flavonoides se induce o se incrementa con la irradiación UV. Sin embargo, las investigaciones se han centrado en la interacción que se puede producir entre las plantas y otros organismos vivos, y más concretamente, los efectos de los compuestos fenólicos sobre los microorganismos que pueden infectar las plantas (Robards y Antolovich, 1997).

También algunos investigadores han considerado que se forman como mecanismo de defensa frente a los animales herbívoros, aportando un sabor astringente, menor digestibilidad y efectos adversos sobre la permeabilidad de la pared intestinal. De ahí que los animales hayan desarrollado la capacidad de reconocer y evitar las dietas ricas en taninos (Clausen et al., 1992).

#### 2.5.4 IDENTIFICACIÓN Y AISLAMIENTO DE COMPUESTOS FENÓLICOS

Los métodos de aislamiento e identificación de los compuestos fenólicos se fundamentan en sus propiedades ácidas y en su polaridad. Así la solubilidad en álcali es utilizada para fines de extracción y los métodos espectroscópicos, de los cuales la espectroscopía ultravioleta es la clásica, permiten diferenciar este grupo de sustancias. Tal como para otros metabolitos secundarios, es difícil visualizar uno o dos métodos generales de aislamiento y purificación, sobre todo cuando se consideran compuestos poliméricos como taninos, ligninas y procianidinas, o si se incluyen alcaloides fenólicos o esteroides fenólicos. (Marcano & Hasegawa, 2002)

La mayoría de fenoles son sólidos y su color varía desde incoloro hasta fuertemente colorados, dependiendo de la conjugación del o los cromóforos presentes, su solubilidad en solventes polares: metanol, butanol, etc., permite diferenciarlos de otros pigmentos liposolubles igualmente colorados: los carotenoides. Su acidez los hace solubles en bases, como hidróxido de sodio y carbonato de sodio. Generalmente absorben en la región visible y ultravioleta y sus



espectros son afectados por reactivos de desplazamiento de manera característica. Entre estos reactivos se encuentran en bases y sales inorgánicas cuyo metal es capaz de formar quelatos con dos oxígenos fenólicos y/o cetónicos vecinos. (Marcano & Hasegawa, 2002)

La prueba específica universal para fenoles es la producción de una intensa coloración verde, marrón o azul con soluciones recién preparadas de Cloruro Férrico 1-2%, le siguen las pruebas de reactividad de los anillos aromáticos, por reacciones de acoplamiento con sales de diazonio recién preparadas (puede usarse cualquier amina diazotada, aunque las correspondientes al ácido sulfanílico y la p-nitroanilina producen coloraciones más intensas) y por último, la facilidad de oxidación de los fenoles se manifiesta por la reacción de Tollens o cualquier reactivo oxidante.

La extracción es precedida por el desgrasamiento del material con un solvente no polar. Si se desea analizar glicósidos, el método general es una hidrólisis del crudo y el análisis de la mezcla de agliconas; esto permitirá diseñar una estrategia para el aislamiento y purificación de los compuestos originales. En ocasiones, la purificación mediante precipitaciones sucesivas o la distribución contracorriente, dan resultados satisfactorios y esta última técnica se emplea para purificarlos y separarlos de acuerdo a su acidez, si una de las fases se ajusta a diferentes valores de pH mediante el empleo de soluciones buffer.

### 2.5.5 TANINOS

Están constituidos por un grupo de amplio de compuestos de origen vegetal, sin nitrógeno, hidrosolubles a pesar de su complejidad estructural ya que son altamente oxigenados y/o presentan azúcares en su composición que le dan carácter hidrofílico, con estructura polifenólica, capaces de precipitar las macromoléculas (proteínas, celulosa, gelatina), alcaloides y metales pesados. Esta capacidad de precipitar las proteínas es la base de sus dos propiedades principales: su capacidad de curtir la piel y su poder astringente. (López-Casamayor, 2007)

Para que una estructura polifenólica pueda considerarse tanino debe tener un peso molecular comprendido entre 500 y 3000 aproximadamente, ya que por debajo o por encima de estos valores la estructura no se intercala entre macromoléculas, y si lo hace no forma estructuras estables.

Poseen las siguientes propiedades (López- Casamayor, 2007):

- Forman soluciones coloidales en agua y en solventes orgánicos polares (acetona, alcohol), siendo insolubles en disolventes apolares (éter etílico, cloroformo).
- Precipitan con soluciones de hidróxido (calcio, bórico), con metales pesados (wolframio, molibdato amónico), con alcaloides y con diversas macromoléculas (proteínas, celulosa).
- Forman complejos (son agentes quelantes) con metales pesados (mercurio, estaño, zinc) por lo que constituyen antídotos para intoxicaciones causadas por estas sustancias.
- Propiedades redox: se oxidan con facilidad en medio alcalino y sobre todo en medio ácido, pudiendo actuar como reductores de ciertos compuestos (ácido fosfowolfrámico, ferrocianuro férrico)
- Están ampliamente distribuidos en células muertas o enfermas. Su abundancia en tejidos jóvenes y en las heridas causadas en el tallo, particularmente aquellas cerca del suelo, se cree que son utilizados como protección por el vegetal contra infecciones de hongos y parásitos (los árboles pobres en taninos se pudren rápidamente).
- Ejercen un efecto inhibitor sobre muchas enzimas por ello contribuyen a la precipitación de proteínas.
- Pueden encontrarse en todos los órganos: corteza, raíces, rizomas, hojas, flores, semillas y frutos.

#### *2.5.5.1. CLASIFICACIÓN DE LOS TANINOS.*

##### *A. Hidrolizables (galotaninos y elagitaninos)*

Aquellos que por tratamiento con ácido o por enzimas, se separan en la aglicona (ácidos gálico y elágico o sus derivados) y los azúcares. Los taninos hidrolizables presentan un núcleo central constituido por un azúcar o por un análogo del ácido shikímico, el cual está esterificado por unidades de ácido gálico o compuestos relacionados (C6-C1) (Figura 11)

Los elagitaninos son mezclas de varios compuestos y pueden encontrarse los ácidos gálico y elágico en el mismo tanino (Figura 10), por ejemplo en la corilagina, producida por el árbol de avellana. También se supone que durante la hidrólisis puede tener lugar el acoplamiento de dos unidades cercanas de ácido gálico y formar así el ácido hexahidroxiidifénico el cual se convierte a la dilactona: ácido elágico. Éstos son encontrados en hojas, frutas, vainas y espinas de dicotiledóneas leñosas, aún no han sido identificados taninos hidrolizables en monocotiledóneas. (Marcano & Hasegawa, 2002)

Los galotaninos son ésteres de ácido gálico y ácido digálico con osas, generalmente glucosa.

Este tipo de tanino da coloración azul cuando reacciona con el  $FeCl_3$  y no precipitan con soluciones de bromo. (Tezén, 2008)

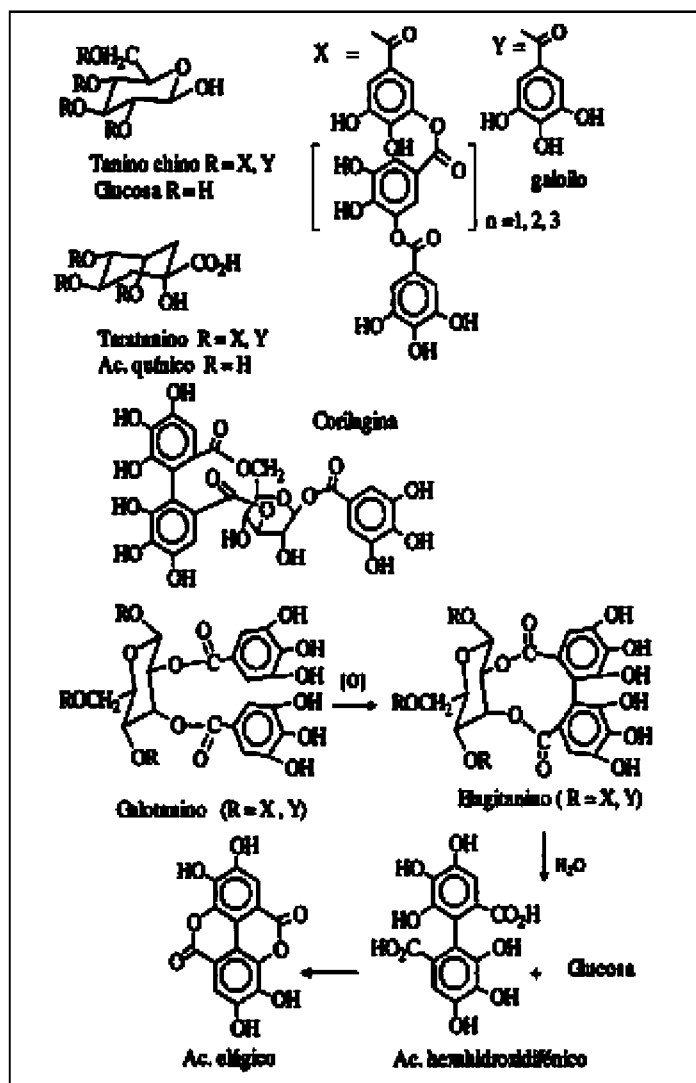


Figura 10 Taninos hidrolizables (Marcano & Hasegawa, 2002)

## B. Condensados

Conocidos como proantocianidinas, son polímeros de componentes fenólicos, menos solubles en agua que los pirogálicos. Estos compuestos son sintetizados por la vía fenilpropano-acetato. Algunos otros, como los compuestos fenólicos psicoactivos del cannabis, los tetra hidrocannabinoides, son Poliacetato o derivados de terpenoides. (Croteau et al., 2000)

Estos compuestos por tratamiento con ácido no se degradan, polimerizan aún más, se oxidan en medio ácido a ebullición, formando unos polímeros insolubles (masas amorfas) de color rojo

conocidos como flobabenos; éstos son polímeros derivados de 3-hidroxi y 3, 4-hidroxi-flavanos. Parecen ser intermediarios en la biosíntesis de la catequina y los flavan- 3,4-dioles, por lo tanto están relacionados con los flavonoides. Son muy desarrollados y están en prácticamente todos los árboles y arbustos. (López Casamayor, 2007)

Entre las proantocianidinas naturales hay dos tipos abundantes: aquellas formadas por la condensación de unidades de catequina y epicatequina que se relacionan a la cianidina y conocidas como procianidinas, y aquellas cuyas unidades monoméricas son galocatequina y epigalocatequina, se asemejan a la delphinidina y son conocidas como prodelfinidinas. Las proantocianidinas se diferencian en la quiralidad de C-2 y C-3. Los cuatro dímeros más abundantes son las procianidinas B1, B, B3 y B4 que han sido aislados de frutos y semillas de una gran variedad de plantas y son invariablemente exentas de azúcares. (Marcano & Hasegawa, 2002)

Las plantas contienen una mezcla de B1 y B4 formadas por unidades de (+) catequina y (-) epicatequina. Si uno de los monómeros se aísla predominantemente como tal, éste mismo conformará el grueso del tanino condensado.

Este tipo de taninos da coloración verde al reaccionar con el  $FeCl_3$  y precipitan con soluciones de bromo (Tezén, 2008)

#### 2.5.5.2. *FUNCIÓN DE LOS TANINOS*

En los vegetales desempeñan una función protectora, ya que se ha comprobado que las plantas parasitadas tienen una mayor proporción de taninos que las no parasitadas por lo que podrían ejercer una acción antibiótica y otra repelente, debido a su carácter ácido; las frutas verdes suelen contener muchos más taninos que las maduras, para prevenir que se ingieran antes de que la semilla madure, es decir disuaden a los herbívoros. (López-Casamayor, 2007)

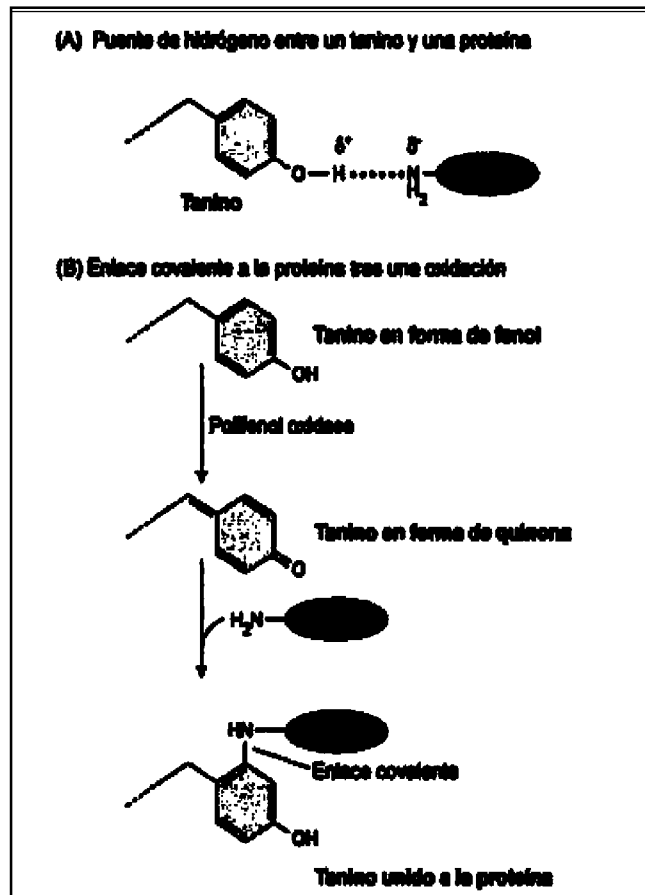
Contribuyen a la formación del súber. Son imprescindibles en la formación de sustancias vegetales como aceites esenciales, resinas, lignina, etc.

Juegan un papel protector, evitando ataque de insectos y hongos, de allí que se la atribuyen propiedades fungicidas y bacteriostáticas.

Cumplen un papel moderador de los procesos de oxidación y de acciones antifermentos.

Se les considera sustancia de reserva, y por otro lado, materiales de desecho. En este último caso, luego de proteger a la planta en ciertas etapas del crecimiento, finalmente se destruyen o depositan como producto del metabolismo en ciertos tejidos muertos de la planta madura, como el súber externo, el leño y agallas (Tezén, 2008) Los taninos son una segunda clase de polímero fenólico vegetal con propiedades defensivas además de la lignina. El término tanino fue usado por primera vez para describir aquellos compuestos que podían convertir la piel del animal en cuero, en el proceso conocido como curtido y se basa en que los taninos se intercalan entre las fibras de colágeno, estableciendo uniones reversibles (interacciones hidrófobas, puentes de hidrógeno, etc) e irreversibles (enlaces covalentes), haciéndola impermeable e imputrescible (Figura 11). Dichas fibras adquieren gran resistencia frente al agua y al calor y la piel se convierte en cuero.

También los taninos son capaces de precipitar proteínas salivares y las glucoproteínas de la boca, por lo que la saliva pierde su poder lubricante y se obtiene un sabor astringente.



**Figura 11** Mecanismos propuestos de interacción de los taninos con proteínas

(A) Se pueden formar puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilos fenólicos de los taninos y los sitios electronegativos de la proteína. (B) Los grupos hidroxilo fenólicos pueden unirse a las proteínas tras su activación por enzimas oxidativas, como polifenol oxidasa.

### 2.5.5.3. ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA DE LOS TANINOS

Se usan como antídotos en intoxicaciones por metales pesados y alcaloides, por su capacidad de formar estructuras complejas con dichas sustancias.

Se usan como cicatrizantes por vía externa, debido a su propiedad astringente y su capacidad de precipitar proteínas de la piel y mucosas, por vía interna es usado como anti diarreico, ejercen este efecto en el intestino y evita la hiperacidez gástrica que producirían se administra

combinados con la albúmina o gelatina. De esta forma el tanino no se libera hasta llegar al intestino, donde hay un medio básico. (Lopez- Casamayor, 2007)

Los taninos aplicados en pomada de uso externo impermeabilizan la piel y protegen de los agentes externos. Si hay una cicatriz favorecen la regeneración (re-epilizantes) y tienen efecto analgésico. Aplicados a heridas sangrantes pueden tener acción hemostática (antihemorrágica).

Tienen una acción bactericida y bacterostática, por lo que son antisépticos.

También ejercen efecto anti fúngico y antiviral.

Los taninos condensados son venotónicos, protectores de la pared venosa y hemostáticos, se usan en supositorios antihemorroidales.

Inhiben la autoxidación del ácido ascórbico. Disminuyen los niveles de colesterol en la sangre y aumentan su metabolismo. Son capaces de captar radicales libres e inhibir la peroxidación lipídica.

Ciertos taninos interfieren en la nutrición, disminuyendo la eficacia de los alimentos, ya sea por inhibición de enzimas metabólicas o por la precipitación de proteínas de la dieta.

Las actividades de los taninos resultantes de su vinculación con las proteínas y otros compuestos de elevado peso molecular e iones de metales pesados han sido discutidos frecuentemente. Se ha observado que el exceso de algunos taninos, como el ácido tánico disponible comercialmente, solubiliza los precipitados producido por el vínculo de estos taninos con algunos alcaloides o iones metálicos. (López Casamayor, 2007)

La actividad de barrido de radicales de los taninos es casi una propiedad subyacente importante de sus actividades biológicas y farmacológicas. Esta actividad es basada en el carácter polifenólico de los taninos e inhibe especies activas del oxígeno generado en diversos sistemas experimentales biológicos y farmacológicos. La intensidad de la inhibición depende de la estructura del tanino y el sistema biológico. Como ejemplo tenemos: la inhibición de la autoxidación del Cobre (II) catalizado por el ácido ascórbico, la inhibición de la autoxidación del metil linolato y la peroxidación lipídica en la mitocondria y microsomas del hígado de ratas; efectos protectores en el daño oxidativo de lentes oculares; acciones antihepató tóxicas en



cultivos de hepatocitos de ratas; actividad antitumoral promotora de EGCG en cáncer a la piel y cáncer al duodeno por administración oral.

#### *2.5.5.4. ACCIÓN BIOLÓGICA DE LOS TANINOS*

Se le atribuyen diversas actividades biológicas: antibacterial, molusquicida, antihelmíntico, antihepatóxica, antiviral, antitumoral y citotóxica, inhibidora enzimática, entre otras. Al menos tres propiedades generales son responsables de esos comportamientos: 1. Habilidad quelante con metales., 2. Propiedad antioxidante y atrapador de radicales libres y 3. Habilidad para formar complejos con macromoléculas como proteínas incluyendo enzimas y polisacáridos. La interacción con proteínas es una de las más importantes y se conoce que los taninos tienen mayor afinidad con las proteínas ricas en prolina y de conformación flexible (enzimas de la saliva, caseína, colágeno-gelatina; siendo la última abundante en la piel se aprovecha para curtir el cuero) pero no con las estructuras rígidas secundarias y terciarias. (Marcano, Hasegawa, 2002)

El uso terapéutico de los taninos podría aprovechar su capacidad para inactivar de enzimas fisiológicamente importantes. Este hecho es cierto en el bioensayo in vitro, pero se sabe poco el comportamiento in vivo. En ese sentido, no habría problema en la inactivación de enzimas extracelulares y es posible su uso para la prevención de caries dentales, ya que los Polifenoles presentes en el extracto del té verde inhiben la acción de glucosiltransferasas del *Streptococcus* sp. que intervienen en la síntesis de glucano a partir de la sacarosa, el cual es responsable de las caries dentales. (Marcano, Hasegawa, 2002).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 LUGAR DE MUESTREO

Las muestras provienen de plantaciones experimentales a campo abierto de un mismo clon de *Uncaria tomentosa* que están ubicadas a lo largo de la Carretera Federico Basadre (Pucallpa-Lima), en las localidades de: Tres de Octubre, El Porvenir y Nuevo Ucayali, pertenecientes a la cuenca del Río Aguaytía, Departamento de Ucayali.

Las localidades de procedencia de la muestra se encuentran ubicadas entre los kilómetros 98 y 203 de la Carretera Federico Basadre y son: Nuevo Ucayali, El Porvenir y Tres de Octubre las cuales pertenecen a los distritos de Irazola, Callería, y Padre Abad del Departamento de Ucayali, respectivamente. (Anexo2 y 3)

**Cuadro 2** Características Geográficas y Climáticas de los lugares de proveniencia de las muestras de *Uncaria tomentosa*

PARÁMETROS	LOCALIDADES		
	Nuevo Ucayali	El Porvenir	Tres de Octubre
Ubicación	Km 98	Km 112	Km 203
Longitud	W7507824	W7507935	W7546723
Latitud	S851497	S859711	S908920
Altitud (msnm)	285,54	384,63	884,58
Precipitación (mm)	3 000	4 000	4 447
Temperatura media (°C)	24,06	24,98	24,98

Fuente: Domínguez 2007.

Tomando en cuenta las características de bio temperatura y altitud se puede ubicar a las localidades en el Mapa Ecológico del Perú (ONERN, 1976), encontrándolas en las siguientes zonas de vida:

Nuevo Ucayali            bosque muy húmedo premontano tropical (bmh- PT)

El Porvenir                    bosque muy húmedo tropical (bmh- T)

Tres de Octubre            bosque muy húmedo premontano tropical (bmh- PT)

Asimismo, las características edáficas de las parcelas experimentales realizadas por Dominguez (2007) se muestran en el Anexo 4.

La fase experimental fue realizada en el Laboratorio de Transformación Química de la madera de la Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Nacional Agraria La Molina.

## 3.2 MATERIALES Y EQUIPOS

Muestra: Hojas de uña de gato (*Uncaria tomentosa*).

### 3.2.1 MATERIALES E INSUMOS

- Agua destilada
- Agua Ultrapura.
- Ácido clorhídrico concentrado
- Butanol (grado reactivo)
- Etanol 96°.
- Etanol HPLC.
- Metanol HPLC.
- Acetona p.a.
- Reactivo de Folin Ciocalteu
- Solución de Carbonato de Sodio (20%)
- Cinta de Magnesio.
- Tricloruro Férrico.
- Cloruro de sodio sólido para análisis.
- Hidróxido de sodio sólido para análisis.
- Patrón de Ácido Tánico Marca Chromadex
- Desecador.
- Cápsulas de porcelana de 30 mL.
- Cápsulas de vidrio de 25 mL.
- Vaso de precipitados de 25, 50, 100 y 600 mL.
- Embudos de vidrio, grandes y chicos.
- Matraces 100 y 250 mL.

- Pipetas volumétricas de 0.5, 1, 2, 5 y 10 mL.
- Varillas de vidrio.
- Tubos de ensayo.
- Gradillas.
- Kitasato de 500 mL.
- Embudo Buchner
- Botellas de vidrio con tapa rosca de 100 y 250 mL.
- Algodón.
- Papel de filtro marca Whatman.
- Papel Tissue
- Tijeras para papel.
- Bolsas herméticas "Uthil" de 26,8 x 27,9 cm.
- Bolsas de Papel
- Cuchilla de escritorio.
- Probetas de 50 y 100 mL.
- Balón de 250 mL.
- Fiolas de 10, 50, 100 y 1000 mL.
- Filtros para Jeringa Milipore de 0,45  $\mu\text{m}$ .
- Placas fluorescentes con respaldo flexible para cromatografía de capa fina, de 250  $\mu\text{m}$ , 60 Å y 20 x 20 cm.
- Jeringas de 5, 10 y 20 mL.

### 3.2.2 EQUIPOS

- Hornillas eléctricas. Marca Herhardt.
- Mufla marca Thermolyne, modelo Furnace 48000 de 0° - 1200° C.
- Balanza marca SAUTER de 0.01 g de precisión.
- Balanza analítica marca OHAUS de 0.0001 mg de precisión.
- Estufa marca Heraeus de 0° - 115° C. Modelo KT500.
- Agitador orbital marca IKA LABORTECHNIK de 0 a 500 revoluciones/min.
- Rotavapor marca BUCHI. Modelo R-210
- Espectrofotómetro Thermo electron Corporation UV – Vis Modelo Helios  $\delta$ .
- Cámara digital Sonny Cybershot modelo DSC S730.

### 3.3 METODOLOGÍA

La investigación se dividió en tres etapas: preparación y evaluaciones físicas de las muestras, marcha fitoquímica y cuantificación de los Polifenoles.

#### 3.3.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

##### *OBTENCIÓN DE LA MUESTRA*

Las muestras de hojas (Figura 12) fueron obtenidas de tres parcelas experimentales, instaladas en el marco de la investigación realizada por Domínguez (2007) ubicadas entre los kilómetros 98 y 203 de la Carretera Federico Basadre, siendo éstas localidades Nuevo Ucayali, El Porvenir, y 3 de Octubre, descritas anteriormente..



**Figura 12** Planta de *Uncaria tomentosa* en la zona de colección.

Para la obtención del material se cortaron ramas de la planta cerca a las yemas axilares utilizando una tijera de podar. Luego éstas eran colocadas sobre hojas de palmeras y cubiertas con sacos de polietileno para evitar la radiación directa e interferir lo menos posible en la degradación de las muestras. (Figura 13)



**Figura 13** Colección de la muestra de hojas de *Uncaria tomentosa*.

La conservación de las drogas es de vital importancia, debido a que las plantas son retiradas de su medio natural, alteran su equilibrio metabólico y se producen reacciones que degradan la droga vegetal recolectada. Las causas de alteración interna más frecuentes son las reacciones enzimáticas, que se producen de forma más marcada cuando el contenido de agua en la planta es superior al 10%. Por otro lado, las causas de alteración externa están dados por: el calor, la radiación, la humedad, ataque de microorganismos, parásitos y otros. Por tanto para evitar la degradación de muestras en la zona de colección se realizó una inhibición enzimática mediante una desecación en un horno artesanal de secado a una temperatura promedio de 40°C con lo que se logró eliminar el agua de las hojas hasta valores aproximados al 10% de contenido de humedad. Además se realizó una separación de las hojas y las ramas (Figura 14). Este proceso tuvo como duración un día en cada localidad y así se logró conservar en buen estado las muestras durante su traslado hacia Lima.



**Figura 14** Secado y separación de las hojas y ramas de *Uncaria tomentosa*

#### *ALMACENAMIENTO Y CONSERVACIÓN*

Previamente al almacenamiento las hojas provenientes del lugar de colección fueron llevadas al área de secado del Laboratorio de Dendrología para disminuir el contenido de humedad mediante el uso de calor por un par de horas. Luego se realizó una selección de las hojas buenas, hojas oxidadas y hojas ennegrecidas, así como también la materia orgánica extraña que sería retirada.

Las hojas se almacenaron en un lugar fresco, ya que el calor puede producir pérdidas de principios activos, además de favorecer la alteración de las hojas. La humedad excesiva también es un factor que podría activar procesos de hidrólisis y degradación de las hojas, por ello el almacenamiento en un lugar seco es adecuado. También las hojas fueron protegidas de la luz, ya que ésta podría producir decoloraciones y se podrían activar procesos de degradación por causa de la luz ultravioleta.

Luego de la selección, se trituraron las muestras necesariamente para el ensayo de Porcentaje de Solubilidad, que se realizó previamente a la preparación del extracto.

Cada muestra fue designada con las siguientes abreviaturas:

**I:** Hojas de Nuevo Ucayali.

**II:** Hojas de El Porvenir.



### III: Hojas de Tres de Octubre

### 3.3.2 ENSAYOS FÍSICOS

Una vez listo el material, se procedía con los ensayos físicos que se detallan a continuación:

#### *ENSAYO DE HUMEDAD*

Se realizaron de acuerdo al procedimiento descrito en la NRSP 309 Ministerio De Salud Pública De Cuba. Para las hojas se realizó el ensayo de humedad gravimétrica descrito en la norma. (Anexo 5)

Este ensayo se realiza por el método gravimétrico cuando la droga cruda no contiene sustancias volátiles.



*Figura 15* Muestras de las hojas de *Uncaria tomentosa* después del secado en estufa.

#### *PORCENTAJE DE CENIZAS TOTALES*

Se realizó el ensayo señalado para: Métodos de ensayo en droga cruda para medicamentos de origen vegetal NRSP 309 Ministerio De Salud Pública De Cuba. (Anexo 6)

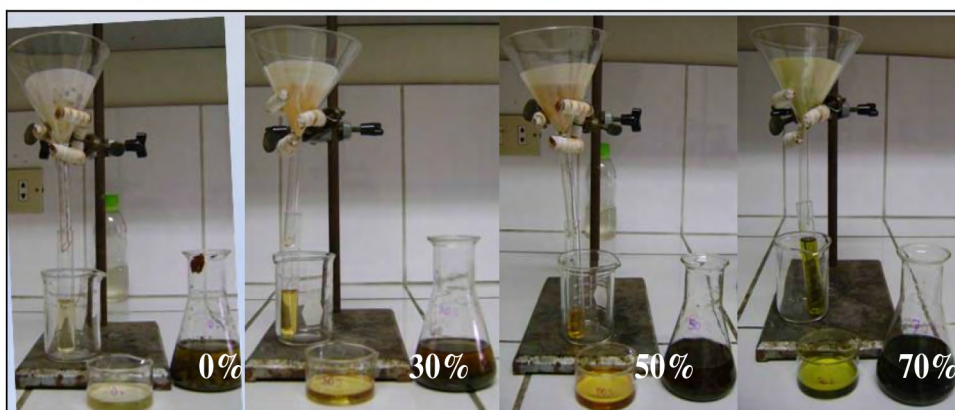


**Figura 16** Muestras de hojas de *Uncaria tomentosa* carbonizadas para calcular el contenido de cenizas totales.

#### ENSAYO DE SOLUBILIDAD

Consiste en determinar el grado de alcohol al cual los diferentes metabolitos secundarios son más solubles, y el procedimiento está descrito en la norma **NRSP – 309**. Se hizo una prueba de solubilidad para cada muestra de hojas, con cuatro proporciones diferentes de solvente (Agua: Etanol) Etanol al 30%, Etanol al 50%, Etanol al 70% y Agua. Lo cual indica diferentes grados de polaridad del solvente (Figura 18).

Se basa en la extracción de las sustancias en agua, alcohol o una mezcla hidroalcohólica, mediante maceración y evaporación hasta sequedad de una alícuota del extracto.



**Figura 17** Procedimiento del ensayo de solubilidad para hojas de *Uncaria tomentosa*.



**Figura 18** Extractos de hojas de *Uncaria tomentosa* a diferentes solubilidades utilizados en el ensayo de solubilidad.

#### *PREPARACIÓN DEL EXTRACTO*

Se utilizó el método de percolación que consiste en pasar el solvente a través de la droga vegetal hasta su extracción exhaustiva.

El solvente utilizado para las hojas de *Uncaria tomentosa* fue una solución hidroalcohólica, cuyo porcentaje varía de acuerdo a la solubilidad hallada para cada una de las muestras de diferente procedencia.

Para realizar la percolación se utilizan percoladores de cuerpo cilíndrico o cónico, por ello se prepararon una batería de 5 percoladores elaborados a base de botellas de agua y se usó malla metálica como soporte de la muestra. Además se aseguró la boquilla de cada botella utilizando tapones de corcho que fueron perforados para insertar una manguera que sería controlada por una llave de metal.

Se humedeció previamente la droga vegetal, esta acción tiene como objetivo aumentar el contacto con el solvente facilitando el paso del mismo y no permitiendo la formación de falsas vías, que perjudican la eficiencia. El humedecimiento aumenta la porosidad de la pared celular y facilita la difusión de sustancias extraíbles hacia el exterior de las células del proceso. El humedecimiento se debe realizar fuera del percolador ya que la droga podría hincharse excesivamente y comprimirse en las paredes del percolador obstaculizando el paso del solvente.

Se colocó la droga vegetal, previamente humedecida, en los percoladores y se le añadió el solvente se dejó reposar por 24 horas y se colectó el extracto pasándolo al siguiente percolador, al primer percolador se le añadió el mismo volumen de solvente y se dejó reposar 24 horas. Se realizó el mismo procedimiento para los 5 percoladores y se colectó el extracto después de transcurridos 6 días.

### CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO

- Evaluando los parámetros de: pH, densidad relativa, sólidos totales, polisacáridos totales, se busca caracterizar los extractos obtenidos, ya que estos nos podrían servir para realizar réplicas posteriores.

#### 3.3.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Es muy importante porque nos permite determinar de forma cualitativa aquellos metabolitos secundarios presentes en las muestras. Para ello se utilizó la metodología del *Tamizaje fitoquímico según la ruta crítica de la OMS<sup>4</sup> para extractos de plantas* (Génova 1998).

Con este tamizaje se esperaba identificar en el material los siguientes metabolitos:

- Alcaloides
- Quinonas
- Flavonoides
- Compuestos grasos
- Azúcares reductores
- Saponinas
- Taninos/fenoles.
- Compuestos aromáticos

La marcha se realizó de la siguiente manera: Una vez identificado el grado de alcohol en el que los metabolitos son más solubles mediante el ensayo de solubilidad, se enumeraron 11 tubos de ensayo, uno para cada prueba, y en cada uno se colocó aproximadamente 1 mL de la solución (alcohol + extracto); si ésta era muy oscura, se le agregaba agua destilada hasta obtener una solución más clara que permitiera observar los cambios de color que algunos reactivos producen ante una reacción positiva a la presencia de metabolitos secundarios. Luego, se

---

<sup>4</sup> OMS Organización Mundial de la Salud

procedió a la identificación de los mismos mediante los diferentes ensayos escogidos. Como se estaba trabajando con un solvente orgánico, algunos de estos ensayos requerían que se evapore previamente el alcohol antes de la aplicación del reactivo correspondiente, tal es el caso de los ensayos de: Dragendorff, Mayer, Wagner, Bornträger, Baljet y Fehling.

El procedimiento para cada ensayo fue el siguiente:

- Dragendorff (Alcaloides): Una vez evaporado el solvente orgánico, redissolver en 1 mL de HCl (1%), calentar suavemente y dejar enfriar. Añadir tres gotas del reactivo.
- Mayer (Alcaloides): Una vez evaporado el solvente orgánico, redissolver en 1 mL de HCl (1%); añadir una pizca de NaCl en polvo, agitar y filtrar: Añadir 2 – 3 gotas de reactivo.
- Wagner (Alcaloides): Una vez evaporado el solvente orgánico, redissolver en 1 mL de HCl (1%) y añadir 2 – 3 gotas de reactivo.
- Bornträger (Quinonas): Una vez evaporado el solvente orgánico, redissolver en 1 mL de cloroformo; añadir 1 mL de NaOH al 5%. Agitar mezclando las fases y dejar en reposo hasta su separación.
- Sudán (Compuestos grasos): Añadir 1 mL de una solución diluida en agua de Sudán III o IV y calentar en baño maría hasta evaporar el solvente.
- Fehling (Azúcares reductores): Una vez evaporado el solvente orgánico, redissolver en 1 – 2 mL de agua y agregar 2 mL de reactivo. Calentar la mezcla en baño maría 10 – 30 minutos.
- Espuma (Saponinas): Diluir el solvente orgánico con cinco veces su volumen en agua y agitar fuertemente por 2 minutos.
- FeCl<sub>3</sub> (Compuestos fenólicos: taninos): Agregar tres gotas de reactivo. A cada 100 mL de solución agregar 1 mL de HCl concentrado.
- Shinoda (Flavonoides): Diluir con 1 mL de HCl concentrado y un pedacito de Mg metálico. Esperar cinco minutos y añadir 1 mL de alcohol amílico. Mezclar las fases y dejar reposar hasta que se separen.

La calificación asignada al término de cada prueba fue la siguiente:

- + + +: Reacción muy evidente.
- + +: Reacción evidente.
- +: Reacción poco evidente pero aceptable.
- - : No hubo reacción / reacción negativa.

### 3.3.4 CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES

Se realizó una curva estándar de ácido tánico conforme al método de Folin-Ciocalteu y se comparó con los extractos de las muestras de *Uncaria tomentosa* de las tres localidades, leyendo en espectrofotómetro Thermospectronic a 760 nm; se expresan los resultados en  $\mu\text{g}$  equivalentes de ácido tánico/ gr. de muestra.

#### *PROCEDIMIENTO*

Determinación de la curva estándar

- Sustancia de referencia, se utilizó ácido tánico puro para análisis de la firma Chromadex, del cual se pesó con precisión 0,5 mg de ácido tánico, se transfirieron a una fiola de 500 mL y se completó el volumen con agua destilada.
- Blanco: Se añaden 5 mL de agua destilada a un matraz aforado de 25 mL.
- Muestra: Se midieron exactamente 2 mL del extracto y fueron transferidos a una fiola de 100 mL, diluyendo con agua destilada hasta enrase.

Desarrollo de color

A cada matraz aforado de 25 mL, con las respectivas muestras, patrones (soluciones de ácido tánico de concentración 0 a 10 ppm, en intervalos de 2ppm) y blanco, se le añadieron 2 mL de solución Folin Ciocalteu, se agitó y se dejó reposar durante 5 min. Luego se añadió 1 mL de solución de carbonato de sodio al 20 %, se agitó, enrasó con agua destilada y homogenizó. Leer la absorbancia de dichas soluciones a 760 nm después de transcurridos 2 minutos.

### 3.3.5 CUANTIFICACIÓN DE TANINOS CONDENSADOS POR EL NÚMERO DE STIASNY

El Número de Stiasny es un método indirecto que corresponde a la cantidad de poliflavonoides o taninos condensados que reaccionan con formaldehído en medio ácido. El Número de Stiasny es un método gravimétrico.

Se agregan 10ml de Formaldehído al 37% y 5 ml de ácido clorhídrico concentrado a 50 mL del extracto. Esta mezcla se lleva a ebullición y reflujo durante 30 minutos, el precipitado formado se separa en papel filtro utilizando una bomba de vacío y se lava con agua caliente para enjuagar el ácido, luego se procede a llevar a sequedad en la estufa, se pesa y se cuantifica.

Previamente se determina la cantidad de sólidos totales en 50 mL. Del extracto. Evaporándolos a sequedad y pesando.

El Número de Stiasny es la relación entre el precipitado formado respecto a los sólidos totales y corresponde al porcentaje de taninos condensados en el extracto. Este porcentaje se calcula multiplicando este número en fracción por el rendimiento en sólidos obtenidos en cada extracto.

$$\text{N}^{\circ} \text{ DE STIASNY} = (\text{PP} * 100) \div \text{PR}$$

$$\text{TC} = (\text{NS} * \text{ET}) \div 100$$

Dónde:

PP: peso del precipitado (g)

PR: peso del residuo de 50 mL de extracto (g)

TC: porcentaje de taninos condensados

NS: N° Stiasny

ET: Porcentaje del extracto total



### **3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL**

Para el Análisis de las muestras se utilizó un Diseño Completamente al Azar.

Se evaluaron 3 muestras por cada procedencia.

3 muestras x 3 procedencias = 9 muestras

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LAS HOJAS

#### 4.1.1 ANÁLISIS DE HUMEDAD

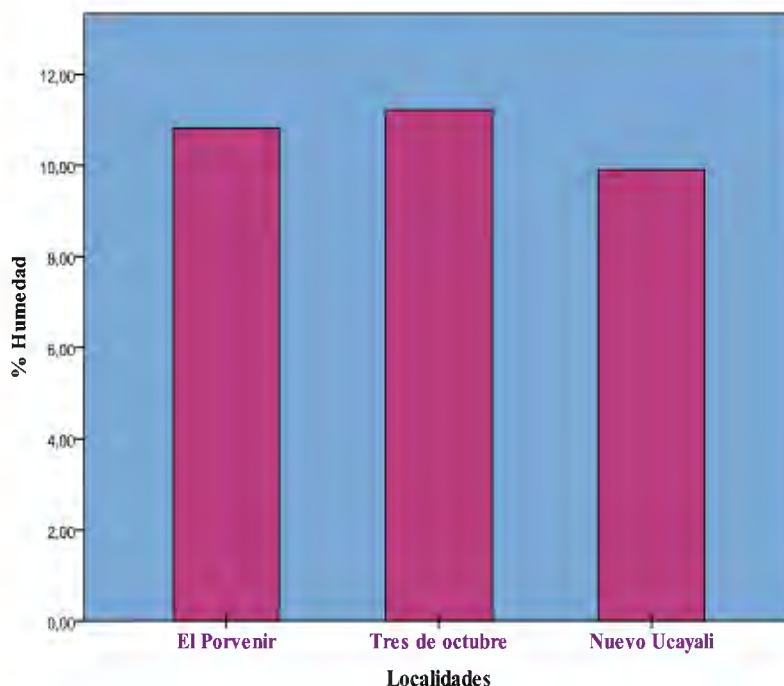
Los resultados del análisis de humedad gravimétrica se presentan a continuación:

**Cuadro 3** Contenido de humedad gravimétrica en hojas de *Uncaria tomentosa*.

LOCALIDAD	MUESTRA	% HUMEDAD	% HUMEDAD PROMEDIO	DESV. EST.
TRES DE OCTUBRE	S1	10,9944	11,2110	0,4256
	S2	10,9372		
	S3	11,7013		
EL PORVENIR	S1	10,1927	10,8132	0,8434
	S2	10,4732		
	S3	11,7735		
NUEVO UCAYALI	S1	9,6423	9,9083	0,2306
	S2	10,0319		
	S3	10,0508		

Los valores promedio de humedad gravimétrica de las hojas de *Uncaria tomentosa* de las diferentes localidades de procedencia (Cuadro 3) difieren entre sí (Figura 19). Sin embargo aplicando un análisis de varianza ANOVA (Anexo 8) se observa que el valor para  $F_{2; 6; 0.05} = 5,143$ ; como  $F_{\text{calculado}} = 4,241 < F_{2; 6; 0.05}$ , aceptamos la hipótesis de que la humedad gravimétrica no varía significativamente entre las localidades al 0.95%, se tiene suficiente evidencia para señalar que la humedad gravimétrica no está influenciada por el lugar de procedencia. Las diferencias en los valores obtenidos pueden responder a la desigualdad de condiciones ambientales durante el proceso de secado, si bien las hojas fueron secadas luego de su colección en el lugar de procedencia usando un mismo proceso de secado, en los lugares de procedencia se presentaron diferencias ambientales.

Otro factor que pudo haber influenciado es los diferentes valores de humedad que las muestras obtuvieron al acondicionarse.



**Figura 19** Porcentaje de humedad gravimétrica promedio de las hojas de *Uncaria tomentosa*.

Los valores de humedad aceptados por la Farmacopea Europea para drogas vegetales tienen como límite superior 12% de contenido de humedad. Por lo tanto los valores hallados en las muestras son los adecuados para trabajar los posteriores análisis.

#### 4.1.2 CONTENIDO DE CENIZAS TOTALES

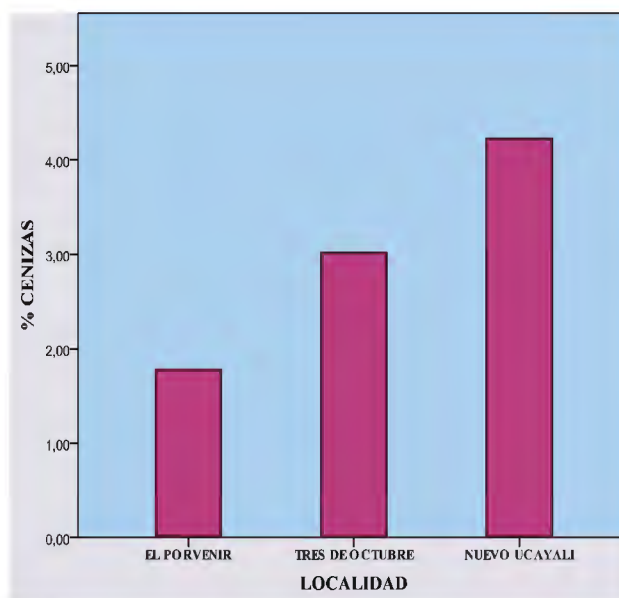
El contenido total de cenizas expresa la cantidad de material inorgánico remanente, proveniente de tejidos de la planta y material extraño adherido a la superficie, luego de someter a la muestra a ignición. Las cenizas están compuestas principalmente en forma de: calcio, potasio, magnesio, sulfatos, fosfatos, carbonatos y silicatos. Por lo tanto, se puede decir que el contenido de cenizas en las plantas depende principalmente de la composición del suelo, ya que éste determina los procesos de nutrición mineral necesarios para el desarrollo vegetal.

**Cuadro 4** Contenido de cenizas totales en *Uncaria tomentosa*

<b>Localidad</b>	<b>Muestra</b>	<b>% Cenizas</b>	<b>% Cenizas Promedio</b>	<b>Desv. estándar</b>
Tres de Octubre	1	3,8025	3,0213	1,8666
	2	0,8911		
	3	4,3704		
El Porvenir	1	1,0774	1,7866	0,7246
	2	2,5257		
	3	1,7568		
Nuevo Ucayali	1	4,1309	4,2295	0,1208
	2	4,1933		
	3	4,3643		

En la Cuadro 4 se observan los resultados obtenidos para análisis de cenizas totales en las hojas de *Uncaria tomentosa*. En el anexo 9 se puede encontrar que el valor para  $F_{2; 6; 0.05} = 5,143$ ; como  $F_{\text{calculado}} = 3,337 < F_{2; 6; 0.05}$ , aceptamos la hipótesis de que las cenizas totales no varían significativamente entre las localidades al 0.95%, tenemos suficiente evidencia para señalar que las cenizas totales no están influenciadas por el lugar de procedencia. Cabe resaltar que de acuerdo a las características de suelos de cada localidad de procedencia (Anexo 4) se muestran que la composición de los suelos podría influenciar sobre la cantidad de cenizas presentes.

En la figura 20 se observa que el mayor contenido de cenizas totales lo presenta la muestra proveniente de Nuevo Ucayali, cuyo promedio de cenizas totales fue 4,23%



**Figura 20** . Porcentaje promedio de cenizas totales en las hojas de *Uncaria tomentosa*

En las drogas vegetales, según la Real Farmacopea Española, los valores permitidos oscilan entre 5-24%, pero los valores más frecuentes están entre 8-10%. Según esto, los porcentajes de cenizas encontrados en *Uncaria tomentosa* se encontrarían dentro de los límites normales para drogas vegetales.

#### 4.1.3 GRADO DE SOLUBILIDAD

El grado alcohólico donde se concentran la mayor cantidad de sólidos fue variable entre las muestras de acuerdo a la procedencia (Cuadro 5). Por tanto, cada extracto realizado posee diferente proporción de solvente (Etanol: agua). Esto probablemente se deba a la variación en la cantidad de metabolitos presente en las hojas, un grado de solubilidad alto podría deberse a un mayor contenido de compuestos extraíbles.

**Cuadro 5** Resultados del ensayo de solubilidad

Localidad	% Solubilidad
Nuevo Ucayali	70
El Porvenir	50
3 de Octubre	30

## 4.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

Los resultados del tamizaje fitoquímico realizado para *Uncaria tomentosa* determinan que los metabolitos secundarios presentes en las hojas de esta especie son: Alcaloides, quinonas, flavonoides, compuestos fenólicos y saponinas (Cuadro 6)

Se encontraron diferencias en los resultados de acuerdo a la procedencia, lo que indica que las condiciones del lugar de procedencia influyen en la producción de metabolitos.

**Cuadro 6** Tamizaje Fitoquímico en extractos de hojas de *Uncaria tomentosa*

Ensayo	Localidades					
	Tres de Octubre	Observac.	El Porvenir	Observac.	Nuevo Ucayali	Observac.
<b>Dragendorff</b>	+		+		+++	
<b>Mayer</b>	++		++		++	
<b>Wagner</b>	-		-		-	
<b>Borntträger</b>	++	Rojo	+	Marrón	+	Marrón rojizo
<b>Sudán</b>	+		+		+	
<b>Fehling</b>	++	precipitado	+	Opalescencia	++	precipitado
<b>Espuma</b>	++		+		+	
<b>Cloruro Férrico</b>	++	Precipitado rojo vino	++	Verde oscuro	++	Verde oscuro
<b>Shinoda</b>	++	Pardo rojizo	++	Carmelita oscuro	++	carmelita
<b>Kedde</b>	++	precipitado	+	precipitado Leve	+++	Precipitado abundante
<b>Gelatina</b>	+++		++		++	
<b>Legal</b>	+		-		-	

La calificación asignada al término de cada prueba fue la siguiente:

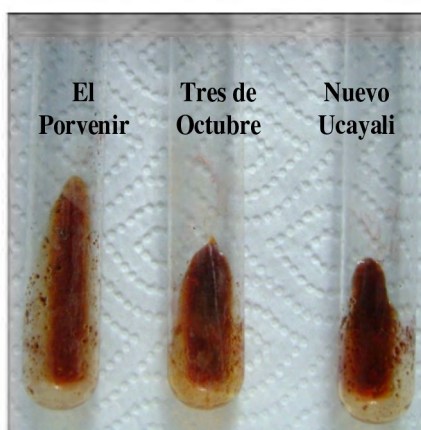
- +++ : Reacción muy evidente.
- ++: Reacción evidente.
- + : Reacción poco evidente pero aceptable.
- : No hubo reacción / reacción negativa.

Así se tiene:

### COMPUESTOS GRASOS

El ensayo de Sudán para compuestos grasos dio positivo para todas las muestras de *Uncaria tomentosa* analizadas. (Figura 21)

Lopez-Casamayor (2007) indica que generalmente los compuestos grasos suelen encontrarse en la superficie de los órganos, como hojas y frutos, ya que desempeñan una función protectora frente a agresiones del medio ambiente. También están distribuidos en frutos y semillas vegetales, debido a que desempeñan un rol esencial en la germinación, cuando se localizan en el pericarpio el contenido de compuestos grasos disminuye en la maduración del fruto.



**Figura 21** Presencia de compuestos grasos luego del reactivo de Sudán

### AZÚCARES

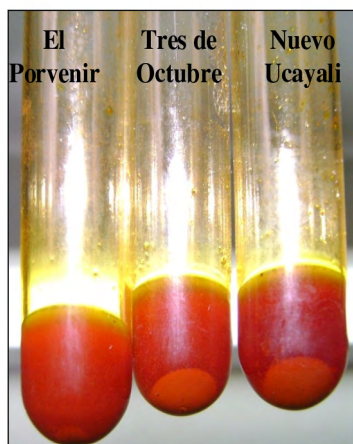
Estos compuestos presentan escasa actividad farmacológica, pero representan al grupo químico más importante en los vegetales por su capacidad plástica y energética (Lopez-Casamayor, 2007)

Los resultados del ensayo de Fehling, empleando el reactivo de Fehling ( $\text{Cu}^{2+}$  amoniacal) demuestran la presencia de azúcares reductores en las hojas de *Uncaria tomentosa*. Lo que indica la presencia de glúcidos en las hojas de uña de gato.

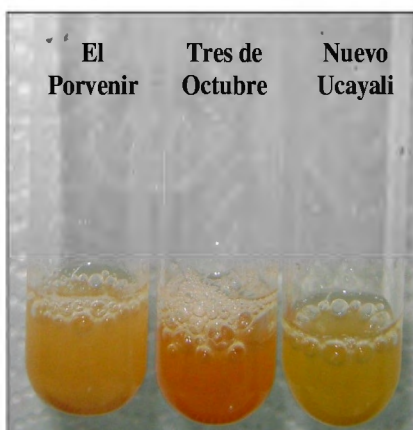
### ALCALOIDES

Para los ensayos de Dragendorff (Figura 22) y Mayer (Figura 24), métodos de detección de alcaloides basados en la precipitación, se obtuvieron resultados positivos para hojas de

*Uncaria tomentosa*, que pertenece a la familia de las Rubiáceas, la cual se caracteriza por presentar abundante contenido de alcaloides. Esto confirma los reportes sobre la presencia de alcaloides en distintas partes de la planta, generalmente suelen encontrarse en los tejidos periféricos: cortezas, raíces, hojas, frutos, semillas. Por otro lado, se obtuvieron resultados negativos para el ensayo de Wagner (Figura 24).



**Figura 22** Reacción de precipitación para la Identificación de alcaloides con el reactivo de Dragendorff



**Figura 23** Reacción para Identificación de alcaloides con el reactivo de Mayer





**Figura 24** Coloración de la reacción en el ensayo de Wagner

Las especies que contienen alcaloides rara vez contienen uno solo, habitualmente contienen varios de ellos, también pueden encontrarse alcaloides en forma de sal o unidos a taninos o ácidos orgánicos, dependiendo su concentración del clima, generalmente las plantas de clima caluroso presentan mayores concentraciones que las de clima frío (Lopez-Casamayor, 2007).

Estos compuestos suelen tener actividad farmacológica, incluso a dosis muy bajas.

### *QUINONAS*

El resultado fue positivo para el ensayo de Bornträger, observándose una coloración roja en la fase acuosa, debido a la ionización del grupo OH, se comprobó la presencia de antraquinonas en hojas de *Uncaria tomentosa* (Figura 25).

Este tipo de metabolito se presenta frecuentemente en la corteza y en el duramen y en algunos casos en hojas, donde su color puede estar enmascarado por otros pigmentos (Lock, 1994). La presencia de las antraquinonas está limitada a un grupo de familias, dentro de las que se encuentra la familia Rubiácea (López- Casamayor, 2007)

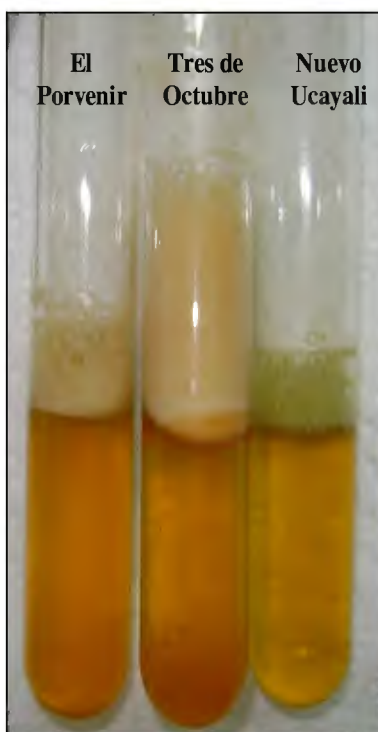
Las quinonas poseen propiedades tintóreas (Lock, 1994). Entre sus aplicaciones terapéuticas se puede mencionar, la actividad laxante o purgante (López- Casamayor, 2007).



**Figura 25** Coloración rojiza en la fase acuosa para el Ensayo de Bornträger en los extractos de *Uncaria tomentosa*

#### SAPONINAS

La presencia de saponinas fue positiva, al realizar el ensayo de espuma se observó la persistente presencia de ésta en las hojas de *Uncaria tomentosa* analizadas (Figura 26).



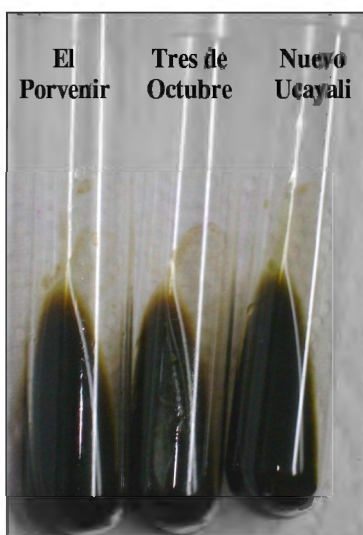
**Figura 26** Espuma en los extractos de *Uncaria tomentosa*

La propiedad de hacer espuma es una característica muy conocida en la mayoría de saponinas, al agitarse en solución acuosa para aquellas saponinas que tienen una o más ramificaciones azucaradas la espuma no será estable. (López- Casamayor, 2007)

Las saponinas pueden encontrarse en cualquier parte de la planta, pero tienen tendencia a acumularse en mayor concentración en partes subterráneas de la planta (raíz y rizoma).

### *TANINOS*

La presencia de taninos fue evidente en todas las muestras analizadas. Se observó una coloración verde negruzca (Figura 27) luego de la aplicación del reactivo tricloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), lo cual indica la presencia de taninos catéquicos o condensados. También se obtuvo resultado positivo debido a la presencia de precipitado en el ensayo de la gelatina (Figura 28)



**Figura 27** Reacción de coloración por el reactivo:  $\text{FeCl}_3$

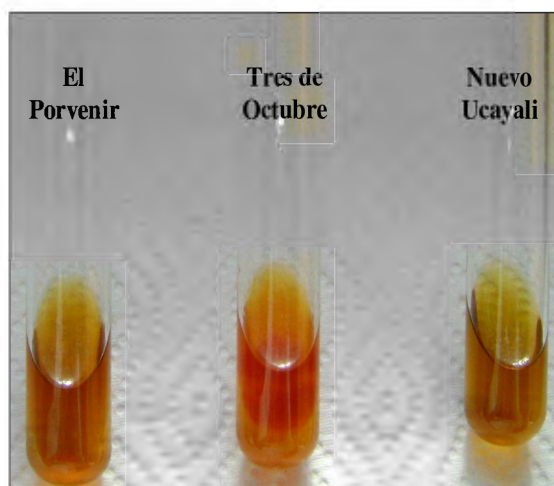


**Figura 28** Formación de Precipitado por el Ensayo de la gelatina

Los taninos ampliamente distribuidos entre las plantas y se encuentran generalmente en mayor cantidad en las células muertas o enfermas, suelen estar combinados con otras sustancias como alcaloides, proteínas y osas. Ejercen un efecto inhibitor sobre muchas enzimas por la precipitación de proteínas, por lo que contribuyen a la función protectora en corteza y leños. Pueden encontrarse en todos los órganos y se pueden acumular en tejidos viejos o tejidos patológicos (agallas) (Lopez-Casamayor, 2007)

### *FLAVONOIDES*

El ensayo de Shinoda, que detecta los componentes con núcleo cromónico reduce los flavonoides y da compuestos coloreados. Para todos los extractos se obtuvo resultados positivos, indicándonos la presencia de flavonoides, de acuerdo a la coloración entre rojiza y carmelita se puede decir que los flavonoides detectados fueron de tipo flavonoles (Figura 29).



**Figura 29** Coloración en el ensayo de Shinoda

#### 4.3 ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DE LOS EXTRACTOS DE *Uncaria tomentosa*

En la evaluación de parámetros para la caracterización del extracto se observa que no hay diferencias significativas en los valores obtenidos (Cuadro 7), este resultado nos indica que los extractos de las diferentes localidades muestran tendencia similar a pesar de haberse obtenido a diferentes concentraciones de solvente.

**Cuadro 7** Ensayos físico-químicos en los extractos de hojas de *Uncaria tomentosa*

LOCALIDAD	PH	DENSIDAD RELATIVA	%SÓLIDOS TOTALES	%POLISACÁRIDOS TOTALES
El Porvenir	4,81	0,9497	0,0156	0,480
Tres de Octubre	4,63	0,9363	0,0147	0,363
Nuevo Ucayali	5,37	0,8957	0,0161	0,248

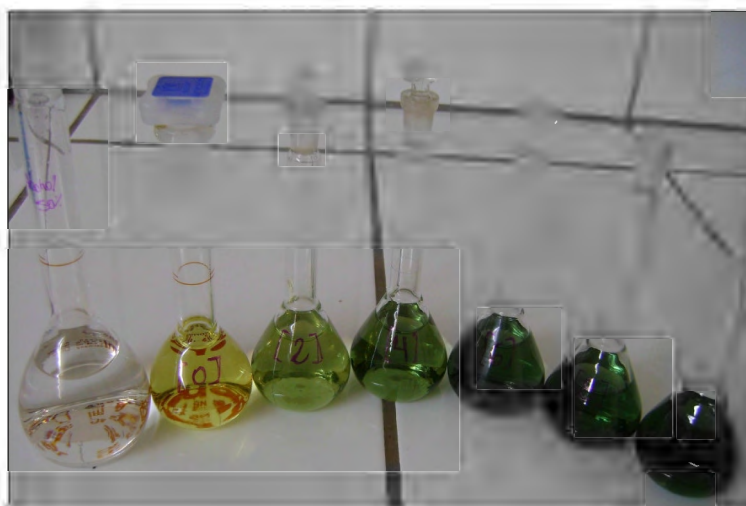
#### 4.4 CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES. MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEU

La relación estructural de los compuestos fenólicos con su capacidad antioxidante, ha sido ampliamente estudiada en matrices vegetales. Una forma experimental de observar esta relación es mediante la comparación entre los valores de actividad antioxidante con el contenido total de fenoles. En general, se ha establecido una relación lineal entre estos dos valores, y se demostró, que a mayor número de grupos hidroxilo, es decir, mayor contenido

total de fenoles. Por tanto mayor será la capacidad antioxidante de la sustancia estudiada (Cala Y Vásquez, 2008).



**Figura 30** Extractos de *Uncaria tomentosa* de las diferentes localidades.



**Figura 31** Desarrollo del color de la sustancia referencia (ácido tánico) por acción del reactivo de Folin-Ciocalteu para obtener la Curva de Calibración.



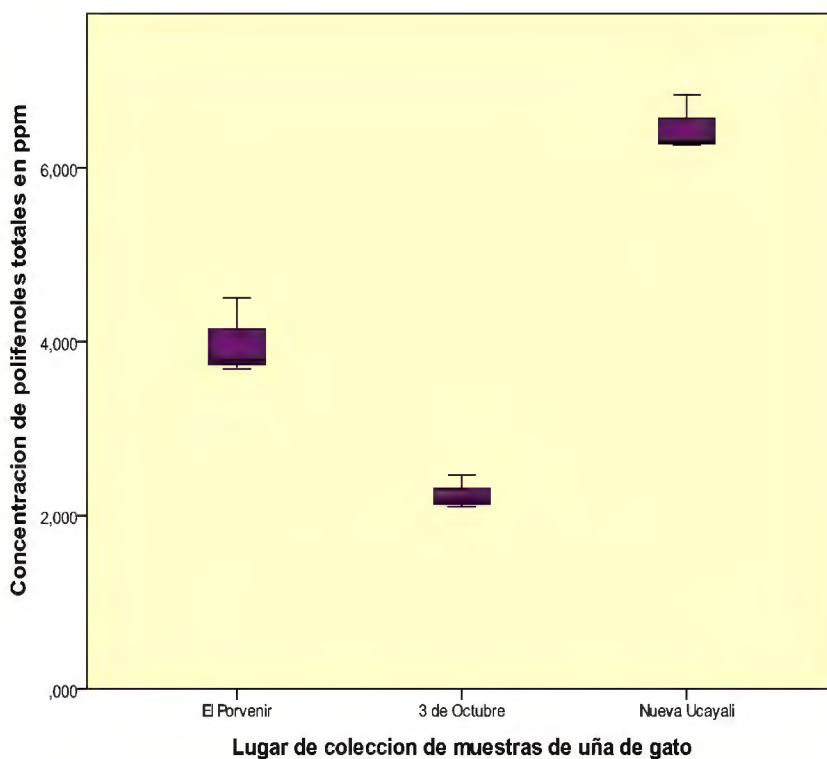
Figura 32 Curva de Calibración con estándar de Acido tánico

Cuadro 8 Test de Linealidad para el Ácido Tánico

X (ppm)	Y(abs)	F(y/x)		
0	0,011	0,000	Desviación estándar	3,742
2	0,132	0,066	Promedio	5,000
4	0,234	0,059	Coefficiente de correlación	0,994
6	0,338	0,056	Ecuación de la recta	0.034+0.046X
8	0,406	0,051	C.V.	0,75 %
10	0,476	0,048	Criterio c.v.f	< 5%

La curva de calibración (Figura 32) para la cuantificación de polifenoles totales en los rangos de concentración conocidos responden a la ecuación:  $0.034+0.046X$  y tienen un coeficiente de correlación de 0.994. Los factores respuesta en la muestra se mostraron variables de acuerdo a su procedencia (Anexo 12) Además, el gráfico absorbancia versus concentración de ácido tánico muestra linealidad en la curva de calibración.

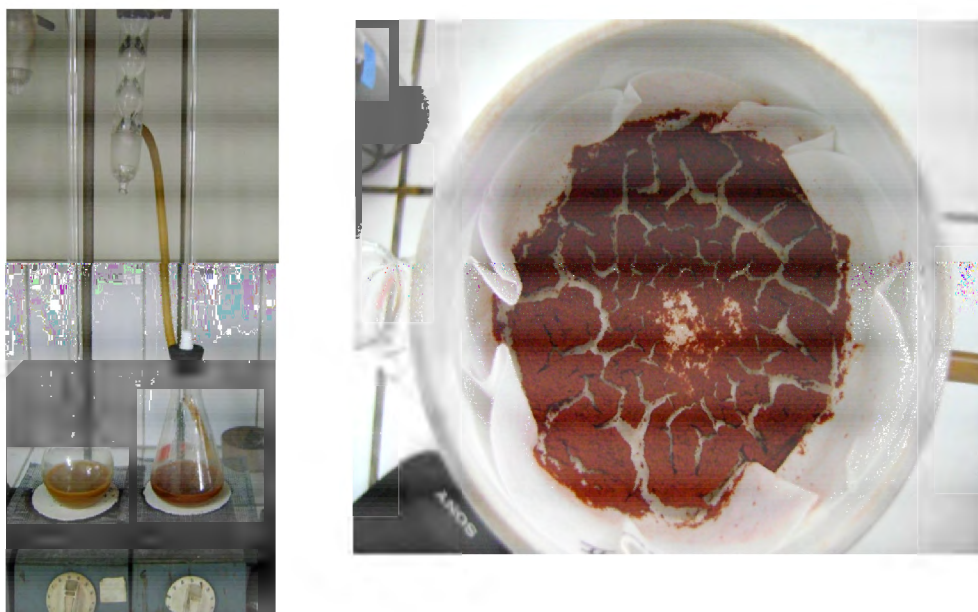
Los valores promedio de contenido de polifenoles totales hallados para las hojas de *Uncaria tomentosa* de diferente procedencia (Anexo 12) difieren entre sí (Figura 33). Al aplicar un análisis de varianza ANOVA (Anexo 10) podemos observar que el valor para  $F_{2; 6; 0.05} = 5,143$ ; y para  $F_{calculado} = 117,831$ . Por lo que se puede observar que  $F_{2; 6; 0.05} < F_{calculado}$ , por ello rechazamos la hipótesis de que el contenido de polifenoles totales no varía significativamente entre las localidades de procedencia al 0,95%, tenemos suficiente evidencia para señalar que la cantidad de polifenoles totales está significativamente influenciada por el lugar de procedencia. Las diferencias en los valores obtenidos pueden responder a las diferentes condiciones edafoclimáticas que se presentan en los lugares de procedencia, como se puede ver en el análisis de suelos (Anexo 4) las condiciones en los que la planta ha sido desarrollada son diferentes, siendo Nuevo Ucayali el lugar que mejor condiciones de disponibilidad de nutrientes presenta, también a esto podemos añadir que los polifenoles son metabolitos que se sintetizan para defensa de la planta frente a las diversas situaciones desfavorables, como por ejemplo la alta radiación ultravioleta.



**Figura 33** Gráfico de Cajas para la concentración (ppm) de Polifenoles totales en hojas de *Uncaria tomentosa*.



#### 4.5 CUANTIFICACIÓN DE TANINOS CONDENSADOS. NÚMERO DE STIASNY



**Figura 34** Formación de precipitado luego de la hidrólisis para la determinación Taninos condensados en hojas de *Uncaria tomentosa* por el Número de Stiasny

**Cuadro 9** Porcentaje de taninos condensados

Localidad	Rendimiento del extracto (%)	Nº de Stiasny	Taninos Condensados (%)
El Porvenir	43,15	60	25,85
		55	23,67
		68	29,26
Tres de Octubre	38,02	76	28,92
		82	31,31
		82	31,29
Nuevo Ucayali	46,34	96	44,36
		52	24,26
		58	26,89

**Cuadro 10** ANOVA para el Contenido de Taninos condensados (%)

	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Inter-grupos</b>	50,902	2	25,451	0,591	0,583
<b>Intra-grupos</b>	258,362	6	43,060		
<b>Total</b>	309,264	8			

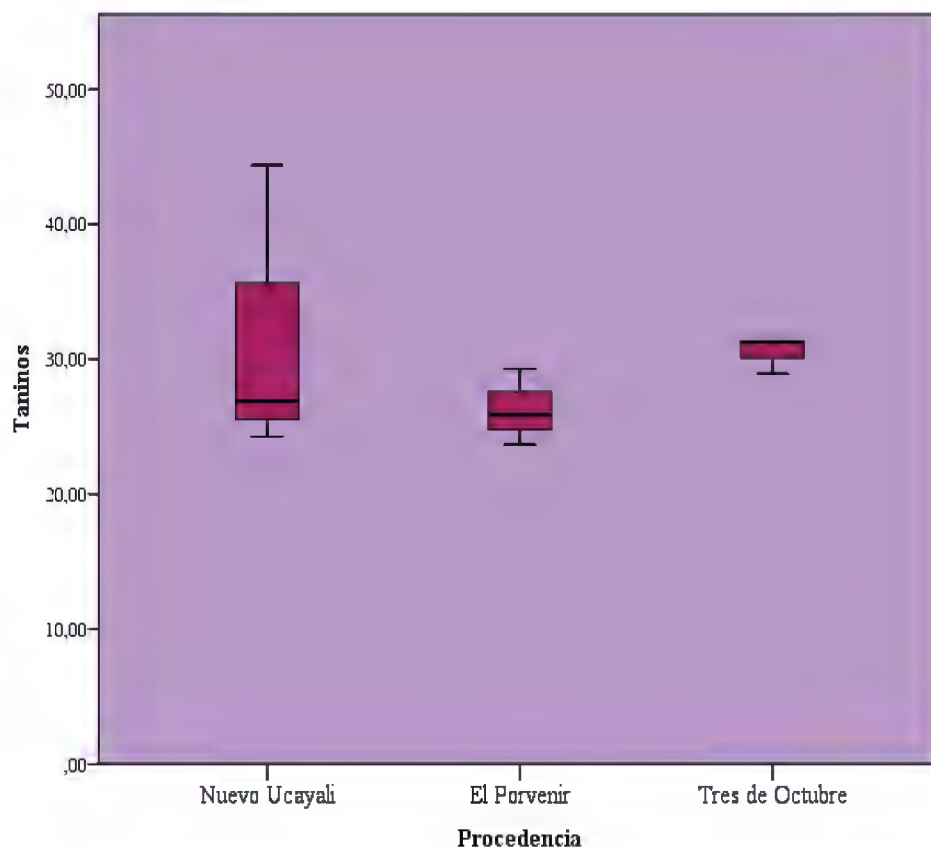
**Cuadro 11** Prueba de Duncan<sup>a</sup> para el contenido de Taninos condensados

Procedencia	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
El Porvenir	3	26,2600
Tres de Octubre	3	30,5067
Nuevo Ucayali	3	31,8367
Sig.		0,352

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

Los valores promedio del porcentaje de taninos condensados obtenidos de los extractos de hojas de *Uncaria tomentosa* de diferente procedencia (Cuadro 9) difieren entre sí (Figura 35). Sin embargo aplicando un análisis de varianza ANOVA (Cuadro 10) podemos observar que el valor para  $F_{2; 6; 0.05} = 5,143$  como  $F_{\text{calculado}} = 0,591 < F_{2; 6; 0.05}$ , aceptamos la hipótesis de que el porcentaje de taninos condensados no varía significativamente entre las localidades al 0,95%, tenemos suficiente evidencia para señalar que dichos compuestos no está influenciada por el lugar de procedencia. Las diferencias en los valores obtenidos pueden responder a una diferencia en las condiciones ambientales en que se han desarrollado las plantas.



**Figura 35** Comparación del contenido (%) de taninos condensados de extractos de *Uncaria tomentosa* obtenidos por el método del Número de Stiasny.

## 5. CONCLUSIONES

- El tamizaje fitoquímico realizado permitió la detección de metabolitos en las muestras de hojas de *Uncaria tomentosa* de las diferentes procedencias. También se comprobó la presencia de metabolitos secundarios: alcaloides, quinonas, flavonoles, taninos pirocatecólicos.
- Se tiene como resultado de la cuantificación utilizando el método de Folin Ciocalteu, que las muestras de hojas proveniente de Nuevo Ucayali presenta mayor contenido de polifenoles totales expresados en ppm de ácido tánico, por otro lado las muestras provenientes de Tres de octubre presentan menor contenido de polifenoles totales.
- El mayor porcentaje de Taninos condensados obtenidos de los extractos de hojas de *Uncaria tomentosa* por el Número de Stiasny se obtuvo de las hojas provenientes de Nuevo Ucayali.

## **6. RECOMENDACIONES**

- Ampliar el estudio fitoquímico realizado mediante la caracterización y cuantificación de los demás metabolitos secundarios.
- Realizar estudios fitoquímicos con material botánico de diferente procedencia para comprobar si existe una variación significativa entre los metabolitos secundarios según el lugar de origen.
- Realizar estudios sobre la variación estacional de los metabolitos secundarios, así como la variación con la edad de la planta.
- Realizar ensayos de actividad biológica y estudios toxicológicos
- Demostrar la efectividad en la actividad biológica frente a otras partes de la planta

## BIBLIOGRAFÍA

1. **ANDERSSON, L.** 1992. A Provisional Checklist of Neotropical Rubiaceae. En Rea, M. 1995. Cinchona y La Tribu Cinchoneae (Rubiaceae) en Bolivia, Actualización Sistemática, Fotoquímica y Actividad Antimalarica. Tesis (Lic. Biología). La Paz: BOL. Universidad Mayor de San Andrés.
2. **BALUARTE Vásquez, Juan.** (2000) La manufactura de muebles a partir de productos forestales no maderables en Iquitos – Perú. Folia Amazónica Vol. 11 (1-2).
3. **BRAKO, Lois & ZARUCHI, James** (1993). Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Peru. Missouri Botanical Garden. St. Louis, Missouri, USA. 1286 p.
4. **BOON, Heather Shirley; SMITH, Michael J.** (2004). The complete natural medicine guide to the 50 most common medicinal herbs. Segunda Edición. 352p
5. **BRENT W.; DAVIS, D.C.** (1992) A "New" World Class Herb for A.K. Practice: *Uncaria tomentosa* - a.k.a. Una de Gato (UDG). [Consultado el 27 de julio de 2010]. Disponible en la Web: <http://www.rain-tree.com/ccarticle.htm>
6. **BRUNETON, Jean** (1991). Elementos de fitoquímica y farmacognosia. Trad. CA de Ángel Villar. España. 594p.
7. **CALA, M. y VÁSQUEZ, Á.** 2008. Estudio comparativo por electroforesis capilar y cromatografía líquida de alta eficiencia de catequinas extraídas de plantas de la familia labiaceae, y determinación de su actividad antioxidante. Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga
8. **CARRASCO-RÍOS, Libertad.** 2009. Efecto de la radiación ultravioleta-B en plantas. IDESIA Vol. 27 (3) 59-76. 17p.
9. **Catalogue of life 2009 Annual Checklist.** [Consultado el 16 de agosto de 2009]. Disponible en: [http://www.catalogueoflife.org/show\\_species\\_details.php?record\\_id=4094022](http://www.catalogueoflife.org/show_species_details.php?record_id=4094022)
10. **Centro para la Investigación Forestal Internacional-CIFOR.** (2006) Riquezas del bosque: Frutas, remedios y artesanías en América Latina. Santa Cruz- Bolivia.

11. **CLAUSEN, T., REICHARDT P., BRYANT, J. y PROVENZA F.** (1992) "Condensed tannins in plant defense: a perspective on classical theories", en *Plant Polyphenols: synthesis, properties, significance*. New York.
12. **COSTA, Isanete** .2006. Utilização de medicamentos fitoterápicos com ênfase na *Uncaria tomentosa Willd d.c.*, dispensados em farmácias de manipulação na Grande Cuiabá. Departamento de Medicina Veterinária de la Universidad Federal de Lavras, Brasil.
13. **CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G.** (2000) Natural Products (Secondary Metabolites). In *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*; Buchanan, B., Gruissem, W., Jones, R., Eds.; American Society of Plant Physiologists. pp 1250-1318.
14. **DELPRETE, P, G.** 2004. Rubiaceas, editado en Smith, N, Mori, S, Henderson, A, Stevenson, D. W., & Helad, S. V editores. 2004. *Flowering Plants of the Neotropics* The New York Botanical Garden Published by Princeton University. New Jersey
15. **DOMÍNGUEZ Torrejón, Gilberto.** (2007) Efecto de diferentes hábitats en el Rendimiento y la calidad fitoquímica del cultivo clonal de *Uncaria tomentosa (Willd.) DC*. Tesis (Dr. Sc.) Pinar del Río, CU. Universidad Pinar del Río "Hermanos Saíz Montes de Oca".
16. **DOMÍNGUEZ Torrejón, Gilberto; CASTILLO Quiliano, Andrés.** (2007) Crecimiento de un clon de *Uncaria tomentosa (Willd.) DC*. en cuatro condiciones de hábitat en la Cuenca del Río Aguaytía, Ucayali-Perú. *Revista Ecología del Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima – Perú*. Vol., 6(1,2).
17. **DUKE, James A.; Bogenschutz-Godwin, Mary Jo; Ottesen, Andrea R.** (2008) *Duke's Handbook of Medicinal Plants of Latin America*. CRC Press. Florida, USA. 832p.
18. **DUKE, James & VASQUEZ, Rodolfo** (1994). *Amazonian ethnobotanical dictionary*. Boca Ratón, Florida, USA. 224p.

19. **GATTUSO M.; Di Sapio, O.; Gattuso S. y Li Pereyra, E.** (2004) Morphoanatomical studies of *Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis* bark and leaves. *Phytomedicine* 11: 213–223p.
20. **GONÇALVES, Cristina; DINIS, Teresa; BATISTA, Maria Teresa** (2005). Antioxidant properties of proanthocyanidins of *Uncaria tomentosa* bark decoction: a mechanism for anti-inflammatory activity. *Phytochemistry* 66 (2005) 89–98.
21. **HEITZMAN, Mary; NETO, Catherine; WINIARZ, Elizabeth; VAISBERG, Abraham; HAMMOND, Gerald.** (2005) Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). *Phytochemistry* 66 (2005) 5–29p.
22. **INOCENTE, Miguel; FUENTES, César; JURADO, Bertha.** (2009). Cuantificación de Taninos condensados en *Triplaris americana* L. (tangarana colorada). *Revista de la sociedad química del Perú*. Vol. 76 (2). 138-148. 10p.
23. **KUKLINSKI, C.** (2000) Componentes químicos. *Farmacognosia*. pág. 94-125. Barcelona, España.
24. **LOCK DE UGAZ, Olga.** (1994). Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales. Segunda edición. Lima, Perú. Pontificia Universidad Católica del Perú. 213 p.
25. **LOMBARDI, Ignacio & ZEVALLOS, Percy.** (1999) Guía para el cultivo, aprovechamiento y conservación de la uña de gato: *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Roemer & Schultes) De Candolle. 47p. (Ciencia y tecnología, 75)
26. **LOPEZ-CASAMAYOR, Eloisa.** 2007. Estudio fitoquímico y Aproximación genética en especies de la sección PLINTHINE del Género *Arenaria* (Caryophyllaceae). Tesis (Dr. Sc). Granada, ES: Universidad de Granada.
27. **MAKKAR, Harinder P.S.** 2003. Quantification of tannins in tree and shrub foliage: a laboratory manual. Kluwer Academic Publishers. Netherlands
28. **MARCANO, Deanna; HASEGAWA, Masahisa.** 2002. Fitoquímica Orgánica. Segunda Edición. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Universidad Central de Venezuela. Venezuela.



29. **ONERN.- Oficina Nacional de Evaluación de Recursos Naturales.** 1976. Mapa Ecológico del Perú. Escala 1:1 000 000. Perú.
30. **OBREGON, Lidia** (1995) “Uña de Gato”. Género *Uncaria*. Estudios botánicos, químicos y farmacológicos de *Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*. Instituto de fitoterapia. 3ra Edición. Lima. Perú. 169p.
31. **Programa de Alimentación y Nutrición del Instituto de Salud Pública.** Revista de Nutrición y Salud 3. España.
32. **QUEVEDO Guevara, Américo.** (1995) Silvicultura de la Uña de Gato. Alternativa para su conservación. IIAP-Ucayali. Pucallpa, Perú. 47p.
33. **QUINTEROS, Belisario** (2001). Distribución natural y determinación edafoclimática de la *Uncaria tomentosa* (Willd.) D.C. y *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmel en la cuenca del Río Aguaytia. Tesis (Ing. Forestal). Pucallpa, PE: Universidad Nacional de Ucayali.
34. **RAINTREE NUTRITION. Tropical Plant Data Base.** [Consultado el 15 de octubre de 2009]. Disponible en la Web: <http://www.rain-tree.com/catclaw.htm>
35. **RÍOS, Mauro.** (2002) Estado actual de la información sobre productos forestales no madereros. Departamento Montes – FAO.
36. **ROBARDS, K. y ANTOLOVICH, M.** (1997): “Analytical chemistry of fruit bioflavonoids”, A review. Analyst, 122: 11R-34R.
37. **ROBBRECHT, E.** 1988 a. Characteristic features and progressions. Contributions to a new subfamilial classification. Opera Bot. En Will, S. 2001. Diversity the Rubiaceae Juss. (Coffea or Madder Family) in the Esquinas Rainforest. Belgica.
38. **ROBBRECHT, E.** 1988 b. Tropical Woody Rubiaceae. Opera Bot. Belgica 1: 7-215.
39. **ROSALES, Martha; GONZÁLES Rubén.** 2003, Comparación del contenido de compuestos fenólicos en la corteza de ocho especies de pino. Madera y Bosques 9 (2), 2003: 41-49.

40. SANDOVAL, M., Okuhama, N.N., Zhang, X.-J., Condezo, L.A., Lao, J., Angeles, F.M., Musah, R.A., Bobrowski, P., Miller, M.J.S., 2002. Anti-inflammatory and antioxidant activities of cat's claw (*Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis*) are independent of their alkaloid content. *Phytomedicine* 9, 325–337p.
41. SCHWONTKOWSKI, Donna (1994) "Herbal Treasures from the Amazon Part One: Blood-Sugar Regulating and Immune-Enhancing Herbs".  
En: *Healthy & Natural Journal* [Consultado el 27 de junio de 2010]. Disponible en la World Wide Web: <http://www.rain-tree.com/article0.htm>
42. SCHWONTKOWSKI, Donna (1995) En "Herbal Treasures from the Amazon Part Two: Male and Female Hormone Regulation Herbs".  
En: *Healthy & Natural Journal* [Consultado el 27 de junio de 2010]. Disponible en la World Wide Web: <http://www.rain-tree.com/article1.htm#two>
43. SCHWONTKOWSKI, Donna (1995) En "Herbal Treasures from the Amazon Part Three: Amazon Herbs for Athletic Performance and Recovery".  
En: *Healthy & Natural Journal* [Consultado el 27 de junio de 2009]. Disponible en la World Wide Web: <http://www.rain-tree.com/article2.htm#three>.
44. TAMBUSI, Eduardo Alberto. 2004. Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico: algunos casos de estudio. Departament de Biologia Vegetal. Universitat.
45. TAIZ Lincoln; ZEIGER, Eduardo. 2007. Fisiología vegetal. Ciencias experimentales/ Experimental Sciences. Universitat Jaume I. Volumen 1 de Col·lecció Ciències experimentals. Tercera Edición. España.
46. TERAN, Jeremy. 2006. Diversidad de la familia Rubiaceae en el Parque Nacional Carrasco (Limbo Palmar y Guacharos). Bolivia.
47. TEZÉN, Pablo. 2008. Determinación del contenido tánico en la corteza de 5 especies forestales aprovechadas en el aserradero de la Asociación de cooperativas forestales de Petén. Facultad de Ingeniería. Universidad San Carlos de Guatemala. Guatemala.
48. TURNER-LLOVERAS, D. Medicinal herbs of Latin America.

49. **VANACLOCHA Bernat**. 2003. Fitoterapia: vademécum de prescripción. Elsevier. Cuarta Edición. España
50. **VILLEGAS, Wilbert; ACERETO, Pablo; VARGAS, Mimi**. 2006. Análisis Ultravioleta-visible. La Teoría y la Práctica en el ejercicio profesional. Universidad Autónoma de Yucatán. México.
51. **VERMERIS, Wilfred & NICHOLSON, Ralph**. (2006) Phenolic compound biochemistry.
52. **WATSON, Leslie & DALLWITZ, Michael**. (1994). Rubiaceae Juss. The families of flowering plants: Descriptions, illustrations, identification and information retrieval. URL: [Consultado junio del 2010] Disponible en la Web: <http://delta-intkey.com/angio/www/rubiacea.htm>
53. **ZAVALA, C.** (1995). Taxonomía, distribución y situación poblacional del Género *Uncaria Scherb* en el Perú. Tesis (Ing. Forestal). Lima, PE: Universidad Nacional Agraria La Molina. 105 p.
54. **ZAVALA, C. & ZEVALLOS, P.** (1996) Taxonomía, distribución geográfica y status del género *Uncaria* en el Perú. 1ra. Edición. Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Ciencias Forestales. Lima, Perú. 103 p.

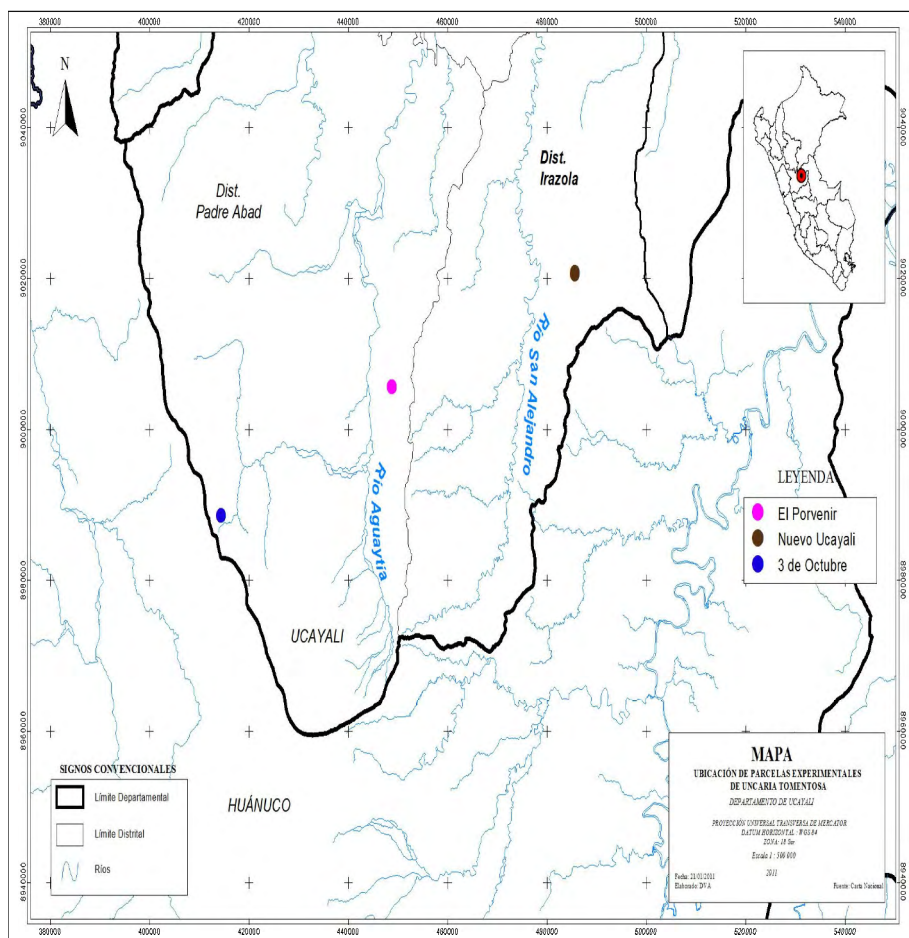
# ANEXO 1

## DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE *Uncaria tomentosa* EN EL PERÚ



## ANEXO 2

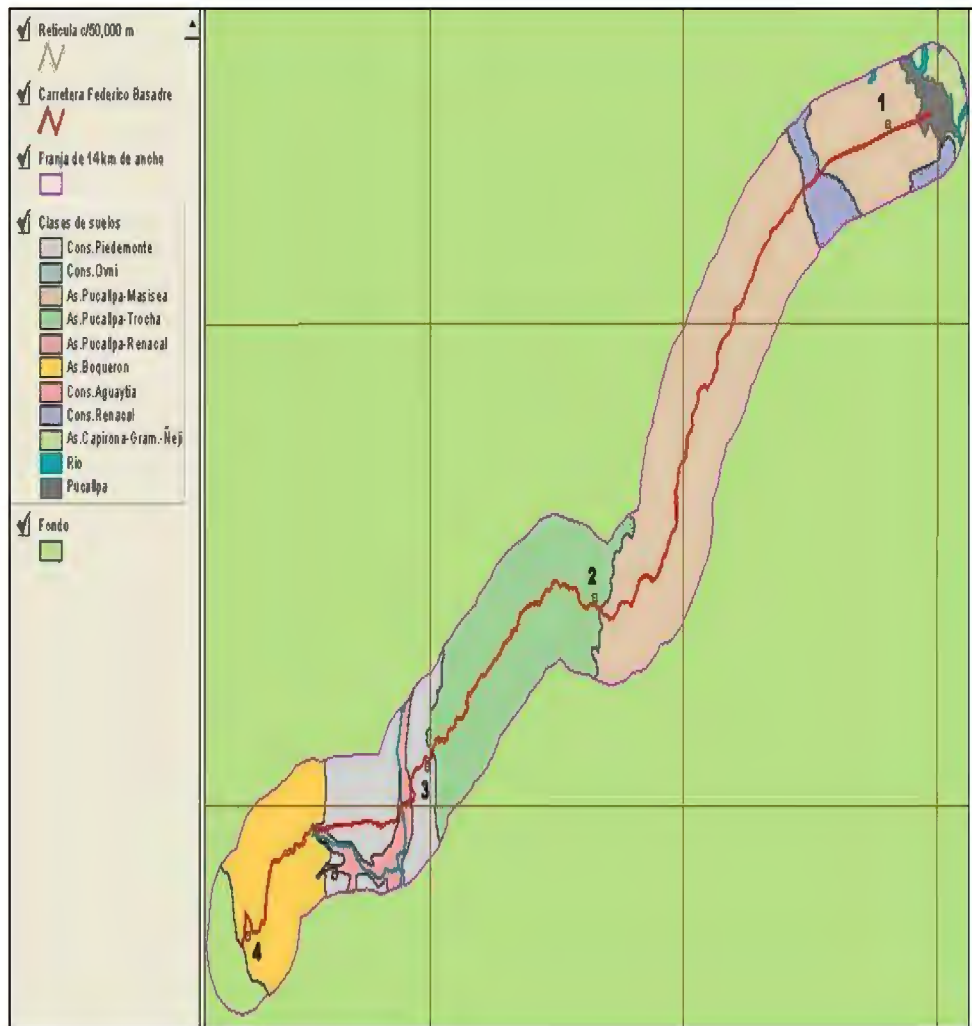
### MAPA DE UBICACIÓN DE LAS PARCELAS EXPERIMENTALES DE *Uncaria tomentosa* EN EL DEPARTAMENTO DE UCAYALI



Fuente: Elaboración propia

## ANEXO 3

### MAPA SEGÙN TIPO DE SUELO DE LAS PARCELAS EXPERIMENTALES



Fuente: IIAP, 1999

## ANEXO 4

### ANÁLISIS DE SUELOS DE LAS LOCALIDADES DE NUEVO UCAYALI, EL PORVENIR Y TRES DE OCTUBRE.

PROCEDENCIA	pH (1:1)	M.O. %	P ppm	K Ppm	CIC	Cambiables					SUMA DE CATIONES	SUMA DE BASES	% SAT. DE BASES
						Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Al <sup>+3</sup> + H <sup>+</sup>			
						me/100g							
NUEVO UCAYALI	6,1	4,6	7,1	275,3	60,94	40,25	4,38	0,86	0,21	0,20	45,90	45,70	76
EL PORVENIR	4,1	2,9	7,0	107,8	32,38	2,25	2,25	1,03	0,59	0,16	9,00	13,03	12
TRES OCTUBRE	5,3	3,3	8,0	227,5	27,58	13,39	1,39	0,13	0,15	0,48	15,04	15,06	56

PROCEDENCIA	ANÁLISIS MECÁNICO			CLASE TEXTURAL
	ARENA %	LIMO %	ARCILLA %	
NUEVO UCAYALI	21,8	28,2	50	Arc
EL PORVENIR	54	26	20,00	Fr-Arc
TRES OCTUBRE	37,2	35,8	27	Fr-Arc

*Fuente: Dominguez, 2007*

## ANEXO 5

### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO DE HUMEDAD GRAVIMÉTRICA.

De la muestra de ensayo, se pesan 2,0 g con un error máximo de 0,5 mg y se transfiere a un pesa filtro previamente tarado y se deseca a 105 °C durante 3 h . El pesa filtro se pasa a una desecadora donde se deja enfriar a la temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante 1 h ; se repite esta operación hasta obtener una masa constante.(Figura 15)

El contenido de humedad (H) de la muestra de ensayo expresada en porciento se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$H_g = \frac{M_2 - M_1}{M} \cdot 100 (\%) \text{ m/m}$$

Dónde:

$M_2$  masa del pesafiltro con la muestra de ensayo (g)

$M_1$  masa del pesafiltro con la muestra de ensayo desecada (g)

100 factor matemático para los cálculos



## ANEXO 6

### PROCEDIMIENTO PARA CONTENIDO DE CENIZAS TOTALES

Se pesa 0.5 g de muestra de hojas de *Uncaria tomentosa*, con un error máximo de 0,5 mg en un crisol de porcelana, previamente tarado. (Figura 17)

Se calienta suavemente la muestra de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incinera en un horno mufla a una temperatura de 600 °C, durante 2 h. Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa (Figura 16).

Se repite el proceso a partir de la incineración, hasta obtener masa constante, es decir, hasta que no difieran en más de 0,5 mg/g dos pesadas consecutivas. Para obtener la masa constante el tiempo de calentamiento y pesada se hace en intervalos de 30 min. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido de hidrógeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio 10 g/100 mL y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco.

La cantidad de cenizas totales ( $C_i$ ) en base anhidra se calcula por la fórmula siguiente:

$$C_1 = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} 100 (\%) \quad C_i = \frac{C_1 * 100}{100 - H}$$

Dónde:

$C_1$  cenizas totales en base hidratada

M masa del crisol vacío (g)

$M_1$  masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

$M_2$  masa del crisol con la ceniza (g)

100 factor matemático para los cálculos

H % humedad

## ANEXO 7

### PROCEDIMIENTO PARA EL ENSAYO DE SOLUBILIDAD

De la muestra de laboratorio, se pesan 5 g y se transfiere a un frasco cónico con tapa de 250 mL; se añaden 100 mL de agua o alcohol al por ciento establecido en la monografía. Se agita durante 6 h y se deja en reposo hasta el día siguiente; se agita 30 min, se deja reposar alrededor de 30 min y se filtra por papel (Figura 17). Se toma una alícuota de 20 mL, se evapora sobre baño de agua, se deseca a 105 °C en una estufa durante 3 h, se enfría y se pesa. (Figuras 17 y 18)

El porcentaje de solubilidad en base anhidra ( $S_s$ ) se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$S_s = \frac{R * 500 * 100}{M * (100 - H)} (\%)$$

Dónde:

H      humedad de la muestra (%)

500 y 100 factores matemáticos para los cálculos

R      residuo de la muestra (g)

M      masa de la muestra (g)

## ANEXO 8

**ANOVA PARA LA HUMEDAD GRAVIMÉTRICA ENTRE LAS  
MUESTRAS DE HOJAS DE *Uncaria tomentosa* DE LAS  
DIFERENTES LOCALIDADES.**

	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Inter-grupos	2,674	2	1,337	4,241	0,071
Intra-grupos	1,891	6	0,315		
<b>TOTAL</b>	<b>4,565</b>	<b>8</b>			

## ANEXO 9

ANOVA PARA CENIZAS TOTALES ENTRE LAS MUESTRAS DE HOJAS DE  
*Uncaria tomentosa* DE LAS DIFERENTES LOCALIDADES.

	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	8,952	2	4,476	3,337	0,106
Intra-grupos	8,047	6	1,341		
Total	16,999	8			

## *ANEXO 10*

### **ANOVA PARA LA CONCENTRACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES EXPRESADOS EN ppm DE ÁCIDO TÁNICO**

	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Inter-grupos	27,085	2	13,542	117,831	0,000
Intra-grupos	0,690	6	0,115		
Total	27,774	8			

## ANEXO 11

### PRUEBA DE DUNCAN<sup>a</sup> PARA LA CONCENTRACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES EXPRESADOS EN ppm DE ÁCIDO TÁNICO

Lugar de procedencia	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Tres de Octubre	3	2,24033		
El Porvenir	3		3,99567	
Nuevo Ucayali	3			6,46933
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

## ANEXO 12

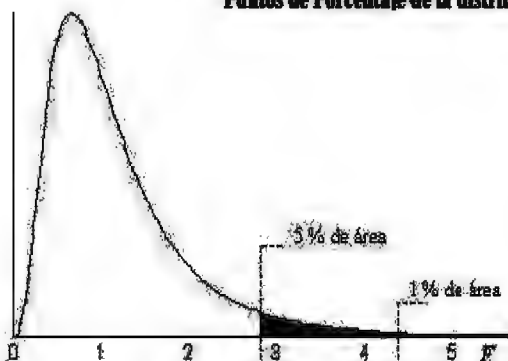
**TABLA DE ABSORBANCIAS Y CONCENTRACIONES DE ACIDO TÁNICO  
OBTENIDAS PARA LAS MUESTRAS DE *Uncaria tomentosa*.**

<b>Muestra</b>	<b>Repetición</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración (ppm)</b>
El Porvenir	1	0,197	3,675
	1	0,198	3,695
	1	0,198	3,695
	2	0,202	3,777
	2	0,202	3,777
	2	0,204	3,818
	3	0,237	4,495
	3	0,238	4,515
	3	0,238	4,515
Tres de octubre	1	0,119	2,077
	1	0,121	2,117
	1	0,120	2,097
	2	0,122	2,138
	2	0,123	2,158
	2	0,124	2,179
	3	0,138	2,466
	3	0,138	2,466
	3	0,138	2,466
Nuevo Ucayali	1	0,323	6,257
	1	0,323	6,257
	1	0,324	6,277
	2	0,324	6,279
	2	0,325	6,299
	2	0,326	6,320
	3	0,351	6,832
	3	0,352	6,852
	3	0,352	6,852

# ANEXO 13

## TABLA DE DISTRIBUCIÓN F DE FISHER

Puntos de Porcentaje de la distribución F



Ejemplo:

Para  $n_1 = 9, n_2 = 12$  grados de libertad:

$P[F > 2.80] = 0.05$

$P[F > 4.39] = 0.01$

$n_2$		5% (normal) y 1% (pequeñas) puntos para la distribución de F																									$n_1$	
		n1 grados de libertad (para el mayor cuadrado medio)																										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	$\infty$			
1	1	161	199	210	225	230	234	237	239	241	242	243	244	245	246	248	249	250	251	252	253	253	254	254	254	254	1	
2	1	18.52	19.00	19.10	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.40	19.41	19.42	19.43	19.45	19.45	19.46	19.47	19.48	19.48	19.49	19.49	19.49	19.49	19.50	2	
3	1	19.59	19.69	19.76	19.85	19.90	19.93	19.95	19.96	19.97	19.98	19.99	20.00	20.01	20.02	20.03	20.04	20.05	20.06	20.07	20.08	20.08	20.09	20.09	20.09	20.09	20.10	3
4	1	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.78	8.74	8.71	8.69	8.68	8.64	8.62	8.60	8.58	8.56	8.55	8.54	8.53	8.53	8.53	8.53	4
5	1	34.12	30.82	29.46	28.71	28.24	27.91	27.67	27.49	27.34	27.23	27.13	27.05	26.92	26.83	26.69	26.60	26.50	26.41	26.35	26.29	26.24	26.18	26.15	26.15	26.13	5	
6	1	7.71	6.94	6.59	6.39	6.28	6.18	6.09	6.04	6.00	5.98	5.94	5.91	5.87	5.84	5.80	5.77	5.75	5.72	5.70	5.68	5.66	5.65	5.64	5.63	5.63	6	
7	1	21.29	18.80	16.69	15.90	15.52	15.21	14.98	14.80	14.65	14.55	14.45	14.37	14.25	14.15	14.02	13.93	13.84	13.75	13.69	13.61	13.56	13.52	13.49	13.46	13.46	7	
8	1	8.01	6.79	6.41	6.19	6.06	5.95	5.88	5.82	5.77	5.74	5.70	5.68	5.64	5.60	5.58	5.55	5.52	5.50	5.48	5.46	5.44	5.42	5.41	5.40	5.37	8	
9	1	16.26	13.27	12.06	11.39	10.97	10.67	10.46	10.29	10.16	10.05	9.95	9.85	9.77	9.69	9.55	9.47	9.38	9.29	9.24	9.17	9.13	9.09	9.04	9.02	9.02	9	
10	1	6.00	5.14	4.78	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.08	4.05	4.00	3.98	3.92	3.87	3.84	3.81	3.77	3.75	3.73	3.71	3.69	3.68	3.68	3.67	10	
11	1	13.75	10.92	9.78	9.15	8.75	8.47	8.26	8.10	7.98	7.87	7.79	7.72	7.66	7.52	7.40	7.31	7.23	7.14	7.09	7.02	6.98	6.93	6.90	6.88	6.88	11	
12	1	5.59	4.74	4.36	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.60	3.57	3.53	3.49	3.44	3.41	3.38	3.34	3.32	3.29	3.27	3.25	3.24	3.23	3.23	12	
13	1	12.25	9.55	8.45	7.85	7.46	7.19	6.99	6.84	6.72	6.62	6.54	6.47	6.36	6.26	6.16	6.07	5.99	5.91	5.86	5.79	5.75	5.70	5.67	5.65	5.65	13	
14	1	6.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.31	3.28	3.24	3.20	3.15	3.12	3.08	3.04	3.02	2.99	2.97	2.95	2.94	2.93	2.93	14	
15	1	11.26	8.65	7.59	7.01	6.63	6.37	6.18	6.03	5.91	5.81	5.73	5.67	5.56	5.46	5.36	5.28	5.20	5.12	5.07	5.00	4.96	4.91	4.88	4.86	4.86	15	
16	1	5.12	4.28	3.89	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.10	3.07	3.03	2.99	2.94	2.90	2.86	2.83	2.80	2.77	2.76	2.73	2.72	2.71	2.71	16	
17	1	10.56	8.02	6.99	6.42	6.06	5.80	5.61	5.47	5.35	5.26	5.18	5.11	5.01	4.92	4.81	4.73	4.65	4.57	4.52	4.45	4.41	4.36	4.33	4.31	4.31	17	
18	1	4.80	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.94	2.91	2.88	2.83	2.77	2.74	2.70	2.66	2.64	2.60	2.59	2.56	2.55	2.54	2.54	18	
19	1	10.04	7.54	6.55	5.99	5.64	5.39	5.20	5.06	4.94	4.85	4.77	4.71	4.60	4.52	4.41	4.33	4.25	4.17	4.12	4.05	4.01	3.96	3.93	3.91	3.91	19	

Fuente: <http://portal.fagro.edu.uy>, 2007