



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA
La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA

TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO

Etnomedicina y fitoquímica de dos especies de Lecythidaceae: *Grias neuberthii* J.F.Macbr. y *Grias peruviana* Miers

TRABAJO DE TITULACIÓN

AUTORES: Aguilar Condoy Gianela Elizabeth

Aguirre Rodríguez Adriana Nathaly

DIRECTOR: Romero Benavides, Juan Carlos, Dr.

LOJA – ECUADOR

2017



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2017

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN

Doctor.

Juan Carlos Romero Benavides

DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación: Etnomedicina y fitoquímica de dos especies de Lecythidaceae: *Grias neuberthii* J.F.Macbr. y *Grias peruviana* Miers realizado por Gianela Elizabeth Aguilar Condoy y Adriana Nathaly Aguirre Rodríguez ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, septiembre del 2017

f)

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.

Nosotras Gianela Elizabeth Aguilar Condoy y Adriana Nathaly Aguirre Rodríguez, declaramos ser autores del presente trabajo de titulación: Etnomedicina y fitoquímica de dos especies de Lecythidaceae: *Grias neuberthii* J.F.Macbr. y *Grias peruviana* Miers, de la Titulación de Ingeniería Química, siendo Juan Carlos Romero Benavides director del presente trabajo; y eximimos expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certificamos que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaramos conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: "Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad.

f.....

Gianela Elizabeth Aguilar Condoy

C.I. 0706161858

f.....

Adriana Nathaly Aguirre Rodríguez

C.I. 1105872780

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico a mis padres, Wilson y Janeth, de quienes he recibido siempre apoyo incondicional, y que con su amor y sacrificio me han motivado a cumplir una meta más en mi vida. A mis hermanos, Wilson y Santiago, por confiar en mí siempre incentivándome a ser una profesional, todo se lo debo a las personas más importantes de mi vida: ustedes, y sin su presencia no lo hubiera logrado.

Adriana.

Este trabajo se lo dedico a quienes son todo para mí, mis padres Wilman y Dilcia quienes con su amor, su presencia, su esfuerzo y sacrificio me ofrecieron lo necesario para hoy llegar a cumplir este sueño. A mis hermanos Karina, Raúl, Julia y Mateo por su cariño, confianza y apoyo incondicional. Sin lugar a dudas esto es por ustedes y para ustedes, tenerlos en mi vida es todo lo que he necesitado.

Gianela.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, al ser del que dependen nuestras vidas, sin su presencia, sin su bendición hoy no estaríamos aquí, tu amor y tú gracia nos ha acompañado siempre. Gracias eternas ser de amor.

A nuestros padres, por su presencia, su amor, su confianza, su comprensión, su apoyo, su aliento en cada momento, celebrar este logro se los debemos totalmente a ustedes, tenerlos ha sido nuestra bendición, gracias por ser el motivo que cada día nos alienta a continuar.

Al Dr. Juan Carlos Romero, por su tiempo, conocimientos y por la paciencia a lo largo de la realización de este trabajo, su ayuda ha sido fundamental para poder lograr esta meta.

A nuestro tribunal conformado por el Dr. Gianluca Gilardoni y Msc. Jose M. Andrade gracias por su colaboración y disposición en el desarrollo del presente. A la Msc. Nathaly Solano, a la Dra. Montserrat Ríos, Ph.D. Zhofre Aguirre y al Ing. Xavier Cornejo por compartir sus conocimientos y colaborar con la realización de este trabajo.

A la universidad por el financiamiento de este trabajo. PROY_CCSAL_1266.

A Jhuly, Santy, Alfonso, Hernán, Marcos por su amistad y apoyo a lo largo de todos estos años, sin lugar a dudas son personas con las que hemos compartido más que un aula, una amistad, que quedará grabada en nuestra memoria y corazón.

A Ronald por su ayuda oportuna, y por los conocimientos que compartió con nosotras a lo largo de la realización de este trabajo.

A Michelle por la ayuda en el trabajo de laboratorio, gracias por estar siempre presta a colaborar en cada una de las actividades realizadas, compartir este tiempo ha sido una linda experiencia para nosotras. Pequeño gran ser de mi vida gracias, porque hemos compartidos más que tiempo en un laboratorio, hemos compartido una amistad, que deseo sea eterna, que la vida siempre te sonría y que aunque estemos en lugares distintos Dios te acompañe de su mano, siempre recuerda que mereces lo mejor del mundo, ya lo comprobarás, mi cariño siempre lo tendrás.

A Adry, gracias infinitas por contar con tu presencia ya 5 años, gracias porque sin ti este logro hoy no sería una realidad, gracias eternas por tu cariño, paciencia, incondicionalidad, confianza, apoyo, hermandad, amistad y sobre todo por estar en cada momento feliz y aún más en los que no lo era tanto, decirte gracias me queda corto, más que mi amiga eres mi hermana. Que Dios nos acompañe siempre. Te quiero infinitamente.

A Geane, gracias por cada momento que hemos compartido, por tu apoyo incondicional, por tus consejos y querer siempre lo mejor para mí, gracias por ser mi amiga y hermana. Siempre desearé lo mejor en tu vida, en mis oraciones tú en todo momento estarás, estoy segura que lograrás grandes cosas en tu vida. Me siento inmensamente feliz por cumplir este logro tan importante de mi vida junto a ti. Gracias por todo amiga eres el ejemplo más grande de amistad, te quiero demasiado y siempre estarás en mi corazón.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xii
RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPÍTULO I.....	5
1. Fin, propósito y componentes del proyecto.....	6
1.1. Fin del proyecto.	6
1.2. Propósito del proyecto.....	6
1.3. Componentes del proyecto.....	6
CAPÍTULO II.....	7
2. Marco teórico.....	8
2.1. Etnomedicina.	8
2.1.1. <i>Definición.</i>	8
2.1.2. <i>Uso de plantas desde la antigüedad hasta la fecha.</i>	8
2.1.3. <i>Etnobotánica y medicina.</i>	9
2.1.3.1. <i>Etnobotánica.</i>	9
2.1.3.2. <i>Búsqueda de nuevos medicamentos usando un enfoque etnomédico.</i>	10
2.1.4. <i>Importancia de la etnomedicina.</i>	11
2.1.4.1. <i>La etnomedicina en Ecuador.</i>	11
2.1.5. Género <i>Grias</i>	12
2.1.5.1. <i>Descripción del género Grias</i>	12
2.1.5.2. <i>Descripción morfológica de Grias neuberthii Macbr y Grias peruviana Miers.</i> 13	
2.1.5.2.1. <i>Grias neuberthii Macbr.</i>	13
2.1.5.2.2. <i>Grias peruviana Miers.</i>	13

2.1.5.3.	<i>Distribución de Grias neuberthii Macbr y Grias peruviana Miers en Ecuador.</i>	14
2.1.5.3.1.	<i>Grias neuberthii Macbr.</i>	14
2.1.5.3.2.	<i>Grias peruviana Miers.</i>	14
2.1.5.4.	<i>Uso medicinal de especies: Grias neuberthii Macbr., Grias peruviana Miers.</i>	15
2.1.5.4.1.	<i>Grias neuberthii Macbr.</i>	15
2.1.5.4.2.	<i>Grias peruviana Miers.</i>	15
2.2.	<i>Fitoquímica.</i>	16
2.2.1.	<i>Estudios fitoquímicos del género Grias.</i>	16
2.2.1.1.	<i>Grias neuberthii Macbr.</i>	16
2.2.1.2.	<i>Grias peruviana Miers.</i>	17
2.2.2.	<i>Algunas técnicas de aislamiento, identificación y caracterización de metabolitos secundarios.</i>	18
2.2.2.1.	<i>Cromatografía.</i>	18
2.2.2.1.1.	<i>Cromatografía en columna.</i>	18
2.2.2.1.2.	<i>Cromatografía en capa fina.</i>	19
2.2.2.1.3.	<i>Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.</i>	19
2.2.2.2.	<i>Punto de fusión.</i>	19
2.2.2.3.	<i>Cristalización.</i>	20
2.2.2.4.	<i>Resonancia nuclear magnética.</i>	20
CAPÍTULO III.		21
3.	<i>Materiales y métodos.</i>	22
3.1.	<i>Metodología empleada para etnomedicina.</i>	22
3.1.1.	<i>Revisión de herbarios nacionales e internacionales.</i>	22
3.1.2.	<i>Identificación en la familia de los especímenes.</i>	22
3.1.3.	<i>Uso medicinal de Grias neuberthii Macbr., & Grias peruviana Miers.</i>	23
3.2.	<i>Esquema de metodología empleada para fitoquímica.</i>	23
3.2.1.	<i>Selección y recolección de la materia vegetal.</i>	24
3.2.2.	<i>Obtención de extractos.</i>	24
3.2.2.1.	<i>Maceración estática.</i>	24
3.2.2.2.	<i>Liofilización.</i>	24
3.2.3.	<i>Identificación de ácidos grasos por cromatografía de gases acoplado al detector de ionización de llama (GC-FID).</i>	25
3.2.4.	<i>Aislamiento de metabolitos secundarios.</i>	27

3.2.4.1.	<i>Unión de extractos.</i>	27
3.2.4.2.	<i>Tamizaje fitoquímico.</i>	27
3.2.4.3.	<i>Montaje de columna.</i>	29
3.2.4.4.	<i>Cromatografía en capa fina.</i>	31
3.2.4.5.	<i>Unión y purificación.</i>	31
3.2.4.6.	<i>Microcolumna.</i>	31
3.2.5.	<i>Caracterización de metabolitos secundarios.</i>	33
3.2.5.1.	<i>Punto de fusión.</i>	33
3.2.5.2.	<i>Factor de retención.</i>	33
3.2.5.3.	<i>Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG/EM).</i>	33
3.2.5.4.	<i>Resonancia magnética nuclear.</i>	33
CAPÍTULO IV		34
4.	Resultados y discusión	35
4.1.	Usos medicinales reportados en herbarios internacionales.	35
4.1.1.	<i>Grias neuberthii</i> Macbr.	35
4.1.2.	<i>Grias peruviana</i> Miers.	36
4.2.	Usos medicinales reportados en herbarios nacionales.	37
4.2.1.	<i>Grias neuberthii</i> Macbr y <i>Grias peruviana</i> Miers.	37
4.3.	Rendimiento de extractos obtenidos.	41
4.3.1.	<i>Extractos de Grias neuberthii</i> Macbr.	41
4.3.2.	<i>Extractos de Grias peruviana</i> Miers.	43
4.4.	Unión de extractos obtenidos.	44
4.4.1.	<i>Grías neuberthii.</i>	44
4.4.2.	<i>Grias peruviana.</i>	46
4.5.	Determinación de la concentración de ácidos grasos identificados por cromatografía de gases acoplado al detector de ionización de llama (FID).	48
4.6.	Tamizaje fitoquímico.	49
4.7.	Actividad biológica.	52
4.8.	Aislamiento de metabolitos secundarios.	53
4.8.1.	<i>Extracto de Acetato de etilo correspondiente a la unión 4 de embrión y epicarpo (GPU4A), de la especie Grias peruviana</i> Miers.	53
4.8.2.	<i>Extracto metanólico de fruto, de la especie Grias neuberthii</i> Macbr.	54
4.8.2.1.	<i>Fracción 4 de la columna correspondiente al extracto metanólico de fruto, de la especie Grias neuberthii</i> Macbr.	56

4.8.2.1.1.	<i>Fracción 2 de la microclumna de la fracción 4 de la columna correspondiente al extracto metanólico de fruto, de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.</i>	57
4.8.2.1.2.	<i>Fracción 3 de la microclumna de la fracción 4 de la columna correspondiente al extracto metanólico de fruto, de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.</i>	58
4.8.2.2.	<i>Fracción 5 de la columna correspondiente al extracto metanólico de fruto, de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.</i>	59
4.8.3.	<i>Extracto metanólico de tallos, de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.</i>	60
4.8.3.1.	<i>Fracción 13 de la columna correspondiente al extracto metanólico de tallos, de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.</i>	61
4.8.3.1.1.	<i>Fracción 1 de la microcolumna de la fracción 13 de la columna correspondiente al extracto metanólico de tallos, de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.</i>	62
4.8.4.	<i>Extracto de metanol correspondiente a la unión 5 de epicarpo y embrión (GPU5M), de la especie <i>Grias peruviana</i> Miers.</i>	63
4.8.4.1.	<i>Fracción 5 de la columna del extracto de metanol correspondiente a la unión 5, de la especie <i>Grias peruviana</i> Miers.</i>	63
4.8.4.1.1.	<i>Fracción 11 de la microclumna de la fracción 5 de la columna del extracto de metanol correspondiente a la unión 5, de la especie <i>Grias peruviana</i> Miers.</i>	64
4.8.4.1.2.	<i>Fracción 12 de la microclumna de la fracción 5 de la columna del extracto de metanol correspondiente a la unión 5, de la especie <i>Grias peruviana</i> Miers.</i>	65
4.9.	<i>Caracterización e identificación de metabolitos secundarios.</i>	66
4.9.1.	<i>Extracto metanólico de fruto de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.</i>	66
4.9.1.1.	<i>Fracción GNFMF4F2F15.</i>	66
4.9.1.2.	<i>Fracción GNFMF4F2F16.</i>	66
4.9.1.3.	<i>Fracción GNFMF4F3F10.</i>	67
4.9.2.	<i>Extracto de metanol-tallos de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.</i>	68
4.9.2.1.	<i>Fracción GNTMF13F1F3</i>	68
4.9.2.2.	<i>Fracción GNTMF13F3</i>	68
4.9.3.	<i>Extracto de acetato de etilo correspondiente a la unión 4 de embrión y epicarpo de la especie <i>Grias peruviana</i> Miers.</i>	69
4.9.3.1.	<i>Fracción GPU4AF8.</i>	69
4.9.4.	<i>Extracto de metanol correspondiente a la unión 5 de embrión y epicarpo de la especie <i>Grias peruviana</i> Miers.</i>	70
4.9.4.1.	<i>Fracción GPU5MF5F11F8.</i>	70
	CONCLUSIONES	71
	RECOMENDACIONES	72

BIBLIOGRAFÍA.....	73
ANEXOS.....	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de distribución de <i>Grias neuberthii</i> en Ecuador.....	14
Figura 2. Mapa de distribución de <i>Grias peruviana</i> en Ecuador.....	15
Figura 3. Estructura de los metabolitos secundarios identificados de <i>Grias neuberthii</i> . 17	
Figura 4. Estructura de los metabolitos secundarios identificados de <i>Grias peruviana</i> 18	
Figura 5. Esquema de metodología para etnomedicina.	22
Figura 6 Esquema de metodología para fitoquímica	23
Figura 7. Montaje y elución en columna abierta.....	30
Figura 8. Cromatografía en capa fina de extractos hexánicos, obtenidos de la especie <i>Grias neuberthii</i>	44
Figura 9. Cromatografía en capa fina de extractos de Acetato de etilo, obtenidos de la especie <i>Grias neuberthii</i>	45
Figura 10. Cromatografía en capa fina de extractos metanólicos, obtenidos de la especie <i>Grias neuberthii</i>	45
Figura 11. Cromatografía en capa fina de extractos hexánicos, obtenidos de la especie <i>Grias peruviana</i>	46
Figura 12. Cromatografía en capa fina de extractos de Acetato de etilo, obtenidos de la especie <i>Grias peruviana</i>	47
Figura 13 Cromatografía en capa fina de extractos metanólicos, obtenidos de la especie <i>Grias peruviana</i>	47
Figura 14. Fracción GNFMF4F2F15.	66
Figura 15. Fracción GNFMF4F2F16.	67
Figura 16. Fracción GNFMF4F3F10.	67
Figura 17 Fracción GNTMF13F1F3.....	68
Figura 18 Fracción GNTMF13F3.	69
Figura 19. Fracción GPU4AF8.	69
Figura 20 Fracción GPU5MF5F11F8	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Especificaciones del Horno del Cromatógrafo	25
Tabla 2 Especificaciones de la entrada posterior.....	26
Tabla 3 Especificaciones de la Columna Cromatográfica	26
Tabla 4 Especificaciones del Detector (FID).....	26
Tabla 5 Especificaciones de la Señal.....	27
Tabla 6 Especificaciones del Inyector Automático 7683 series	27
Tabla 7. Condiciones para cromatografía en columna abierta de extractos de <i>Grias neuberthii</i> y <i>Grias peruviana</i> con mayor actividad antitumoral.	29
Tabla 8. Condiciones para montaje de microcolumna de las fracciones obtenidas de cromatografía en columna.	31
Tabla 9. Reporte de usos medicinales de <i>Grias neuberthii</i> en herbarios internacionales	35
Tabla 10. Reporte de usos medicinales de <i>Grias peruviana</i> en herbarios internacionales.....	36
Tabla 11. Usos medicinales de <i>Grias neuberthii</i> reportados en vouchers etnobotánicos de herbarios de Ecuador.	38
Tabla 12. Usos medicinales de <i>Grias peruviana</i> reportados en vouchers etnobotánicos de herbarios de Ecuador.	40
Tabla 13. Rendimientos de los extractos obtenidos de las diferentes estructuras morfológicas de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.	42
Tabla 14. Rendimientos de los extractos obtenidos de las diferentes estructuras morfológicas de la especie <i>Grias peruviana</i> Miers.	43
Tabla 15. Uniones de extractos obtenidos de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr	45
Tabla 16. Uniones de extractos obtenidos de la especie <i>Grias peruviana</i> Miers.	47
Tabla 17 Concentración de ácidos grasos identificados en la especie <i>Grias neuberthii</i>	48
Tabla 18 Concentración de ácidos grasos identificados en la especie <i>Grias peruviana</i>	49
Tabla 19. Tamizaje fitoquímico de ambas especies.....	50
Tabla 20 Porcentaje de viabilidad de los extractos más activos en líneas celulares de cáncer étnico.....	52
Tabla 21 Concentración inhibitoria 50 (IC ₅₀) de extractos con mayor actividad antitumoral de ambas especies de <i>Grias</i>	52
Tabla 22. Fracciones obtenidas del extracto de Acetato de etilo correspondiente a la Unión 4, de la especie <i>Grias peruviana</i> Miers.	53
Tabla 23. Fracciones obtenidas del extracto metanólico de fruto, de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.	55
Tabla 24. Fracciones obtenidas de la microcolumna correspondiente a la fracción 4, de la columna del extracto metanólico de fruto, de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.....	56
Tabla 25. Fracciones obtenidas de la microcolumna de la fracción 2 (GNF4F2), obtenida de la fracción 4 de la columna de fruto metanol de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.....	57

Tabla 26. Fracciones obtenidas de la microclumna de la fracción 3 (GNFMF4F3), obtenida de la fracción 4 de la columna de fruto metanol de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.....	58
Tabla 27. Fracciones obtenidas de la microcolumna correspondiente a la fracción 5, de la columna del extracto metanólico de fruto, de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.....	60
Tabla 28. Fracciones obtenidas del extracto metanólico de tallos, de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.....	60
Tabla 29. Fracciones obtenidas de la microcolumna correspondiente a la fracción 13, de la columna del extracto de metanólico de tallos, de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.....	61
Tabla 30 Fracciones obtenidas de la microclumna de la fracción 1 (GNTMF13F1), obtenida de la fracción 13 de la columna de tallos metanol de la especie <i>Grias neuberthii</i> Macbr.....	62
Tabla 31. Fracciones obtenidas del extracto de metanol correspondiente a la Unión 5, de la especie <i>Grias peruviana</i> Miers.....	63
Tabla 32 Fracciones obtenidas de la microcolumna correspondiente a la fracción 5, de la columna del extracto de metanol de la unión 5, de la especie <i>Grias peruviana</i> Miers.....	64
Tabla 33 Fracciones obtenidas de la microclumna de la fracción 11 (GPU5MF5F11), obtenida de la fracción 5 de la columna de fruto metanol de la especie <i>Grias peruviana</i> Miers.....	65
Tabla 34 Fracciones obtenidas de la microclumna de la fracción 12 (GPU5MF5F12), obtenida de la fracción 5 de la columna de fruto metanol de la especie <i>Grias peruviana</i> Miers.....	65

RESUMEN

En la presente investigación se efectuó el estudio etnomedicinal de las especies *Grias neuberthii* y *Grias peruviana* conocidas como piton y apay respectivamente. A *Grias neuberthii* se la utiliza principalmente como hemético (semilla) por los grupos étnicos: Kiwcha, Shuar, Huaorani, Cofán, mientras que *Grias peruviana* es utilizada mayormente como energizante (tallo) por los grupos étnicos: Shuar, Waorani, Tsáchila.

Se obtuvieron 3 extractos de las diferentes estructuras morfológicas de cada especie en disolventes como hexano, acetato de etilo, metanol, etanol y agua, a los cuales se les realizó tamizaje fitoquímico para evaluar la presencia de grupos químicos como: carbohidratos, proteínas, grasas, alcaloides, taninos, flavonoides, saponinas, terpenos esteroides y quinonas. Mediante la esterificación de los extractos hexánicos de fruto de ambas especies, se efectuó la identificación de ácidos grasos presentes en las mismas. Los extractos que presentaron mayor actividad en las líneas celulares de cáncer humano se los fraccionó mediante cromatografía en columna abierta, obteniendo de *Grias neuberthii* 5 fracciones y de *Grias peruviana* 2 fracciones, que podrían ser compuestos puros.

Palabras clave: etnomedicina, *Grias neuberthii*, *Grias peruviana*, esterificación, tamizaje fitoquímico.

ABSTRACT

In the present investigation the ethnomedicinal study of *Grias neuberthii* and *Grias peruviana* specie was carried out, known as piton and apay respectively. *Grias neuberthii* was mainly used as blood (seed) by human groups as: Kiwcha, shuar, huaorani, cofan while *Grias peruviana* is mostly use as an energizer (steam) by groups as: Shuar, Waorani, Tsáchila.

Were obtained three extracts of the different morphological structures of each species in solvents such as hexane, ethyl acetate, methanol and ethanol-water. A phytochemical screening was performed to every extract in order ti evaluate the presence of chemical fractions as: carbohydrates, fat proteins, alkaloids, tannins, flavonoids, saponins, terpenes, steroids and quinones. By the esterification of hexanic extracts of fruit of both species, were identified the presence of fatty acids in Booth species. The extracts that showed a greatest activity in human cancer cell lines were fractionated by open column chromatography, obtaining from *Grias neuberthii* 5 fractions and from *Grias peruviana* 2, which could be pure compounds.

Key words: ethnomedicine, *Grias neuberthii*, *Grias peruviana*, esterification, phytochemical screening.

INTRODUCCIÓN

Ecuador es un país megadiverso, cuenta con un sinnúmero de plantas medicinales, las cuales han sido utilizadas por los distintos grupos étnicos desde tiempos aborígenes hasta la actualidad para la prevención y curación de enfermedades, dichos saberes ancestrales han sido transmitidos de forma oral, lo que hoy nos permite conocer tanto las propiedades de tipo medicinal así como las especies vegetales a las cuales se les atribuye las mismas.

Durante muchos años las plantas han sido utilizadas con fines médicos, basándose únicamente en los conocimientos revelados por nuestros antecesores, puesto que no se ha comprobado científicamente su poder curativo. En la actualidad ha surgido el interés de muchos investigadores por comprobar su potencial medicinal, mediante la búsqueda de los componentes responsables de dicha propiedad.

A fin de cumplir este cometido, se ha hecho uso de una herramienta científica, la que permite el estudio a profundidad de los compuestos químicos derivados de las especies vegetales, que les dan a estas la característica medicinal, dicha herramienta se denomina fitoquímica. Estas investigaciones han contribuido en el ámbito de la medicina debido a que gracias a estos estudios se ha logrado el descubrimiento de nuevos fármacos a partir de plantas.

En nuestra Amazonía se desarrollan las especies *Grias neuberthii* y *Grias peruviana*, las cuales pertenecen a la familia Lecythidaceae, conocidas comúnmente como piton y apai respectivamente. Estas especies vegetales describen usos de tipo medicinal entre los que destacan para *Grias neuberthii*: dolor corporal, dolor de cabeza, inflamaciones; para *Grias peruviana* tratamiento de sinusitis, acné y laxante. De la misma forma existen reportes de compuestos que han sido identificados en estas especies tales como: ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados en *Grias neuberthii*; sapogeninas, esteroides, taninos y ésteres para *Grias peruviana*, mientras que en ambas especies se han identificado compuestos orgánicos volátiles que contienen nitrógeno.

Ante lo expuesto se ve reflejada la importancia que tiene la etnomedicina como tal en nuestro país, pues aunque son pocos los estudios realizados sobre etnomedicina se evidencia la diversidad de usos que tienen las plantas medicinales para los grupos étnicos que la utilizan y de la misma manera la importancia que tiene la propagación de dichos usos a fin de mantener en primer lugar la diversidad de nuestro país, así como comprobar científicamente la certeza de los mismos, lo que permitirá determinar la estructura morfológica a la cual se debe el efecto medicinal atribuido a las diversas

especies vegetales presentes en el país y finalmente no menos importante contribuir en el ámbito médico en el descubrimiento de nuevos medicamentos de origen natural. Así mismo se puede evidenciar que los distintos compuestos químicos reportados para ambas especies han sido identificados más no han sido aislados, por tal razón consideramos importante llevar a efecto un estudio más detallado, que a la vez contribuya al aprovechamiento de nuestros recursos naturales, así como al ámbito fitoquímico de especies de la Amazonía del país.

CAPÍTULO I

1. Fin, propósito y componentes del proyecto.

1.1. Fin del proyecto.

Contribuir con el estudio de etnomedicina y fitoquímica de las especies *Grias neuberthii* J.F.Macbr. y *Grias peruviana* Miers, nativas de la Amazonía del Ecuador.

1.2. Propósito del proyecto.

Determinar el uso medicinal e identificar metabolitos secundarios de dos especies de Lecythidaceae en el Ecuador: *Grias neuberthii* J.F.Macbr. y *Grias peruviana* Miers.

1.3. Componentes del proyecto.

- Levantar un registro de uso medicinal de *Grias neuberthii* J.F.Macbr. y *Grias peruviana* Miers. en los especímenes depositados en la red de herbarios del Ecuador y así como en herbarios internacionales.
- Obtener extractos de hexano, acetato de etilo, metanol y agua de *Grias neuberthii* J.F.Macbr. y *Grias peruviana* Miers.
- Aislar, caracterizar e identificar metabolitos secundarios de los extractos con mayor riqueza fitoquímica de *Grias neuberthii* J.F.Macbr. y *Grias peruviana* Miers

CAPÍTULO II

2. Marco teórico

2.1. Etnomedicina.

2.1.1. Definición.

Es un subcampo de la antropología médica y se ocupa del estudio de las medicinas tradicionales: no sólo aquellas que tienen una fuente escrita relevante, sino especialmente aquellas cuyos conocimientos y prácticas se han transmitido oralmente a lo largo de los siglos. En el ámbito científico, los estudios etnomédicos se caracterizan generalmente por un fuerte enfoque antropológico, más que un biomédico. El enfoque de estos estudios es entonces la percepción y el contexto de uso de los medicamentos tradicionales, y no su bioevaluación.¹

Engloba una serie de sistemas médicos tradicionales, a menudo aborígenes, que utilizan plantas nativas y hierbas, que pueden ser administrados por un curandero o un chamán. Los practicantes etnomédicos generalmente reciben su educación a través de un largo aprendizaje, y pueden administrar la terapia en un ritual y evocar la ayuda de una deidad.²

2.1.2. Uso de plantas desde la antigüedad hasta la fecha.

Desde la antigüedad las plantas han proporcionado al hombre todas sus necesidades en términos de refugio, ropa, comida, sabores, fragancias y también medicinas.³

La gran mayoría de la gente en este planeta todavía confía en la medicina tradicional (plantas medicinales y otros materiales) para sus necesidades diarias del cuidado médico. También es un hecho que una cuarta parte de todas las recetas médicas son formulaciones basadas en sustancias derivadas de plantas o análogos sintéticos derivados de plantas y, según la OMS la mayor parte de la población de casi todos los países en vías de desarrollo regularmente usa y depende de la medicina tradicional por sus necesidades de asistencia diaria.⁴

Durante milenios, en todo el mundo se ha curado a los enfermos con remedios derivados de plantas, conocimiento que ha pasado de generación en generación.⁵

La medicina moderna tiene sus raíces en la medicina antigua, y es probable que muchos nuevos remedios importantes sean descubiertos y comercializados en el futuro, como lo ha sido hasta ahora, siguiendo las pistas proporcionadas por los conocimientos y experiencias tradicionales.³

En los tiempos más remotos, los pueblos primitivos atribuían los efectos curativos de las plantas a la intervención de alguno de sus dioses. En nuestros días, los científicos

han descubierto y desarrollado drogas efectivas para el tratamiento de diversas afecciones a partir de compuestos aislados de diferentes plantas.⁶

Las plantas medicinales típicamente contienen mezclas de diferentes compuestos químicos que pueden actuar individualmente, aditivamente o en sinergia para mejorar la salud. Una sola planta puede, por ejemplo, contener sustancias amargas que estimulan la digestión, compuestos antiinflamatorios que reducen las hinchazones y el dolor, compuestos fenólicos que pueden actuar como antioxidantes y venotónicos, taninos como antibacterianos y antifúngicos que actúan como antibióticos naturales, Sustancias diuréticas que mejoran la eliminación de los productos de desecho y toxinas y alcaloides que mejoran el estado de ánimo y dan una sensación de bienestar.³

Tal ha sido el éxito de las plantas como fuente para aislar compuestos bioactivos para su uso directo o como precursores de moléculas modificadas por síntesis química para producir nuevas entidades patentables con mayor actividad y/o menor toxicidad que, en la actualidad, casi el 25% de los fármacos que se prescriben contienen uno o más principios activos derivados de alguna planta, según datos del National Prescription Audit de los Estados Unidos obtenidos sólo de farmacias.⁷

2.1.3. Etnobotánica y medicina.

2.1.3.1. Etnobotánica.

La etnobotánica incorpora en su estudio la cultura o la práctica del conocimiento antiguo que trata de la interacción entre los pueblos y las plantas. La etnobotánica tiene sus raíces en la botánica, el estudio de las plantas. "Cada población humana clasifica las plantas a través de su cultura, desarrolla actitudes y creencias y aprende el uso de las plantas, mientras que el comportamiento humano tiene un impacto directo en las comunidades vegetales con las que interactúan; Las propias plantas también imponen limitaciones a los seres humanos.⁸

Tal es así que se define como es una ciencia interdisciplinaria que combina el estudio del pueblo, con el estudio de las plantas y tiene además estrecha relación con otras ciencias como la taxonomía botánica y antropología, sirviendo de apoyo a la medicina, fitoquímica y a la conservación de la biodiversidad. Cabe recalcar que la etnobotánica no tiene solamente un enfoque medicinal, puesto que abarca diversas categorías de usos que van desde plantas utilizadas para: alimentación, adornos, construcción, caza así como también las utilizadas para fines medicinales. Siendo esta disciplina ejercida no tan solo por un tipo de profesionales, sino que es multidisciplinaria, ejercida por:

botánicos, antropólogos, farmacéutas, químicos, historiadores y arquitectos entre otros.⁹

2.1.3.2. *Búsqueda de nuevos medicamentos usando un enfoque etnomédico.*

Desde los primeros tiempos el hombre ha acudido a la naturaleza para obtener sustancias que o bien le ayudaran a paliar los síntomas de sus enfermedades, o bien le facilitarían la obtención del alimento. Esta es la causa de que en la actualidad el modelo de aproximadamente la mitad de los productos que se dispone sea de origen natural.¹⁰

Las plantas han constituido la base de los sistemas de medicina tradicional, que se han utilizado durante miles de años. El uso de plantas en sistemas de medicina tradicional de muchas culturas ha sido ampliamente documentado. Estos sistemas basados en plantas siguen desempeñando un papel esencial en el cuidado de la salud y la Organización Mundial de la Salud estima que el 80% de los habitantes del mundo continúan dependiendo principalmente de los sistemas de medicamentos tradicionales para su atención de la salud. Los productos vegetales también juegan un papel importante en los sistemas de salud del 20% restante de la población, principalmente residentes en países desarrollados. El análisis de los datos sobre prescripciones otorgadas en las farmacias comunitarias en los Estados Unidos de 1959 a 1980 indica que el 25% contenía extractos de plantas o principios activos derivados de plantas superiores y al menos 119 sustancias químicas, derivadas de 90 especies vegetales, pueden considerarse importantes Drogas en uso.¹¹

De estos 119 fármacos, el 74% fueron descubiertos como resultado de estudios químicos dirigidos al aislamiento de los principios activos de plantas usadas en medicina tradicional.³

Las plantas superiores han demostrado ser una fuente importante de nuevos compuestos bioactivos, tanto por presentar actividad farmacológica per se, como por representar nuevos tipos moleculares para el desarrollo de drogas, incluyendo antihipertensivos, analgésicos, citotóxicos y antiinflamatorios. Esto incluye compuestos que son medicamentos de primera elección o incluso los únicos existentes para el tratamiento de éstas afecciones. Ejemplos son la vincristina y vinblastina, alcaloides aislados de *Catharantus roseus* utilizados clínicamente para el tratamiento de varios tipos de linfomas y leucemias, o como el taxol, extraído de *Taxus baccata*.

Además de los beneficios directos del descubrimiento de nuevos agentes naturales activos, el conocimiento de la flora medicinal como fuente de nuevos fármacos

contribuye a su valorización, conservación, y a la generación de nuevas oportunidades de actividades económicas tendientes a su explotación económica racional.¹²

2.1.4. Importancia de la etnomedicina.

Según la Organización Mundial de la Salud hasta el 80% de la población de algunos países en desarrollo depende de la medicina tradicional y de las plantas medicinales para responder a sus necesidades de atención médica.¹³

Los estudios etnomedicinales son significativos para el descubrimiento de nuevos medicamentos crudos de plantas medicinales reportadas por los indígenas.¹⁴

El estudio de la etnomedicina proporciona un puente entre la medicina occidental y las prácticas de curación cultural de los pueblos indígenas. También ayuda a abordar la aparente desconexión que las sociedades modernas tienen con la tierra que habitamos y sus sistemas naturales.¹⁵

El uso de plantas medicinales para aliviar o sanar ciertas afecciones, ha sido importante porque: Es una práctica tradicional, que destaca en las poblaciones de bajos recursos económicos inicialmente, pero ahora con las características de ser muy útiles ha dejado de ser una moda para ser una opción de salud, permite que se validen los conocimientos que nuestros ancestros nos transmitieron, legitimando el conocimiento tradicional.¹⁶

La importancia de la etnomedicina radica en los beneficios potenciales para la humanidad en términos de las farmacopeas tradicionales que sirven de base para el descubrimiento de nuevos fármacos.¹⁷ Tal es su importancia que la OMS aprobó una resolución en 2009, en los que constan aspectos de: conservación, propagación, investigación acerca de la etnomedicina como un medio que permite una relación directa con la salud.¹⁸

2.1.4.1. La etnomedicina en Ecuador.

El Ecuador es un país megadiverso en biodiversidad y en riqueza cultural, al poseer 18 pueblos y 14 nacionalidades, sus saberes ancestrales en medicina tradicional son muy amplios, saberes que han empezado desde el origen mismo y han sabido preservarse hasta el día de hoy, llevando así al Ecuador a poseer una medicina tradicional amplia y generosa.¹⁹

El uso de plantas medicinales en el Ecuador, como en el mundo entero se remonta a épocas inmemoriales, donde para la curación de sus enfermedades el hombre únicamente disponía de especies vegetales. La presencia humana en el Ecuador, se

remonta a más de once mil años, como lo atestiguan las piezas talladas en obsidiana. A lo largo de esos milenios el hombre primitivo debió haber sufrido dolor físico, traumatismos, heridas, afecciones respiratorias, trastornos gastrointestinales y entre otras dolencias. Y de la misma manera que descubrió el valor alimenticio de ciertos productos vegetales en un medio de tan extraordinaria biodiversidad, debió también ir descubriendo el valor curativo de muchas plantas.²⁰

Dando así origen a la medicina tradicional en el Ecuador, misma que empezó con el conocimiento de las propiedades de ciertas plantas y se convirtió en un complejo sistema de conocimientos, prácticas y creencias cuyos orígenes son las distintas culturas pre-incas que gradualmente fueron homogeneizándose bajo el aparato centralizador del Tahuantinsuyo Incaico; sistema que brindó un aporte sustancial a la medicina autóctona.²¹

Ecuador de acuerdo a su Constitución, es una nación pluriétnica y multicultural; de ahí que los saberes ancestrales y la medicina tradicional se reconstituye culturalmente como prioridad en nuestra constitución, y como paradigma contemporáneo.

Es imposible negar la eficiencia de la herbolaria utilizada por la medicina tradicional, pues la mayor parte de la población ecuatoriana utiliza o utilizó al menos una vez, algunas de estas plantas para aliviar o curar males menores: dolor de cabeza, dolor abdominal, tos, diarrea, y otros trastornos. Por tanto, el uso medicinal de las plantas está ampliamente difundido en el país. Se estima que alrededor del 70% de la población hace uso de ellas para la atención primaria de salud.²²

A través de la medicina tradicional el conocimiento empírico se transmitió de generación en generación hasta nuestros días, constituyéndose en parte de la medicina popular. Y es deber ético no solo de los pueblos y nacionalidades del Ecuador sino de todo el pueblo ecuatoriano el preservar y desarrollar sosteniblemente sus espacios sagrados, conocimientos, tecnologías y prácticas, ya que tras miles de años de existencia la medicina tradicional continúa demostrando su potencial.¹⁹

2.1.5. Género *Grias*

2.1.5.1. Descripción del género *Grias*

El género *Grias* pertenece a la familia Lecythidaceae específicamente al grupo principal de Angiospermas (Plantas con flores). Este género incluye 22 especies de las cuales solo 9 han sido aceptadas, dentro de estas se incluyen *Grias neuberthii* J.F. Macbr y *Grias peruviana* Miers.²³

Comprende especies nativas de las regiones tropicales del Caribe y Sudamérica. Son árboles de pequeño o mediano tamaño que alcanzan los 5-15 m de altura. Tienen las hojas perennes, alternas, simples, anchamente lanceoladas y muy largas, de hasta un metro de longitud, con los márgenes serrados u ondulados. Las flores son de color blanco-crema a amarillo con cuatro pétalos. El fruto es de 6-15 cm de longitud, carnoso y comestible en algunas especies.²⁴

2.1.5.2. Descripción morfológica de *Grias neuberthii* Macbr y *Grias peruviana* Miers.

Estas descripciones proveen las principales características físicas de ambas especies, mismas que fueron facilitadas por el especialista mundial del Género *Grias* Msc. Xavier Cornejo.

2.1.5.2.1. *Grias neuberthii* Macbr.

Árboles muy ramificados, hasta 30 m; el tronco hasta 60 cm, cilíndrico hasta la base; la corteza lisa. Hojas espiraladas; peciolo ausentes o hasta 7.5 cm x 4-7 mm; láminas oblanceoladas, 32-120 x 12-22 cm, coriáceas, glabras, base atenuada, márgenes enteros, apenas revuelto hacia la porción distal, ápice acuminado; 23-42 pares de nervios secundarios, los nervios terciarios débiles y percurrentes. Inflorescencias caulinares, 1 a varios racimos que emergen de prominencias leñosas, ráquis 5-35 cm, glabro, cada uno produce desde 10 hasta muchas flores; pedicelos 6-27 mm, subtendidos por una bráctea oblonga, 7-13 x 4-9 mm, y que portan un par de bracteolas ampliamente ovadas, 3-11 x 3-7 mm, localizadas justo debajo del hipantio. Botones florales globosos; flores maduras 5-8 cm diam.; hipantio pubescente; cáliz con 4 lóbulos libres desde la prefloración; pétalos oblongos hasta suborbiculares, 2-3 x 1.5-2 cm, divergentes en anthesis, hasta 5 mm de grosor, usualmente amarillos, con tintes rosado y rojo, glabros; anillo estaminal 2-4 mm de alto, los filamentos curvados hacia el interior; ovario 4-locular. Frutos fusiformes, 7-18 x 5-10 cm, lisos, de color café, glabros, el mesocarpo amarillo hasta anaranjado, 8-14 mm de grosor. Semilla 1, 6-14 x 4-7 cm, con 8 costillas longitudinales.

2.1.5.2.2. *Grias peruviana* Miers.

Árboles muy ramificados, hasta 30 m; el tronco hasta 50 cm, cilíndrico hasta la base; la corteza lisa. Hojas espiraladas; peciolo ausentes o hasta 11.5 cm x 2-8 mm; láminas oblanceoladas, 20-120 x 8-35 cm, coriáceas, glabras, base cuneada u obtusa, márgenes enteros hasta serruladas, apenas revuelto hacia la porción distal, ápice acuminado; 11-50 pares de nervios secundarios, los nervios terciarios débiles y

percurrentes. Inflorescencias caulinares y ramifloras, 1 a varios racimos que emergen de prominencias leñosas, ráquis 0.5-11.5 cm, glabro, cada uno produce desde 1 hasta 15 flores; pedicelos 8-70 mm, subtendidos por una bráctea triangular hasta ovada, 1-3 x 2-4 mm. Botones florales ovados; flores maduras 3.5-7 cm diámetro.; hipantio glabro hasta pubescente; cáliz con lóbulos fusionados en la prefloración, separándose en 2-4 lóbulos irregulares; pétalos oblongos hasta elípticos, rara vez obovados, 1.7-3 x 1-2.5 cm, divergentes en anthesis, usualmente amarillos, glabros; anillo estaminal 2-9 mm de alto, los filamentos curvados hacia el interior; ovario 4-locular. Frutos elípticos, fusiformes u obovados, 7.5-13 x 5-7 cm, lisos, de color café-verdosos, glabro, el mesocarpo amarillo hasta anaranjado, 4-15 mm de grosor. Semilla 1, 5-10 x 2.5-5 cm, con 8 costillas longitudinales.

2.1.5.3. Distribución de *Grias neuberthii* Macbr y *Grias peruviana* Miers en Ecuador.

2.1.5.3.1. *Grias neuberthii* Macbr.

La figura 1 muestra la distribución de la especie *Grias neuberthii* en Ecuador, pudiendo evidenciar que esta se desarrolla a lo largo de toda la Amazonía.



Figura 1. Mapa de distribución de *Grias neuberthii* en Ecuador

Fuente: USDSG ²⁵

Elaboración: USDSG ²⁵

2.1.5.3.2. *Grias peruviana* Miers.

La especie *Grias peruviana*, se desarrolla en algunas provincias de las regiones Costa y Amazonía, como se puede apreciar en la figura 2 (Fig. 2).



Figura 2. Mapa de distribución de *Grias peruviana* en Ecuador

Fuente: USDSP²⁶

Elaboración: USDSP²⁶

2.1.5.4. Uso medicinal de especies: *Grias neuberthii* Macbr., *Grias peruviana* Miers.

2.1.5.4.1. *Grias neuberthii* Macbr.

La especie *Grias neuberthii* tiene como hábitat el clima tropical húmedo, se utiliza en la medicina tradicional: el mesocarpio rallado y mezclado con agua es purgativo, la semilla es usada como anti disentérico y cocida es usada como enema, el jugo de la semilla combate la sinusitis, la pulpa cocida en agua y tomada es usada como laxante, la infusión de la corteza es usada para detener la hemorragia uterina.²⁷

La infusión de esta especie es utilizada por los quechuas (Pastaza) como purificante emético, contra la inapetencia y malaria. Se conoce como "Sacha mangua" que significa mango del bosque silvestre.²⁸

La decocción de la corteza es emética; se la toma en caso de dolores del estómago para "lavar" el organismo. La decocción hecha con las semillas tiene el mismo uso. La decocción preparada con la pulpa de la fruta es conocida como purgativo por los Siona. Los Quichuas toman la infusión de la corteza para detener hemorragias uterinas; la infusión es también abortiva y esterilizante.²⁹

2.1.5.4.2. *Grias peruviana* Miers.

Esta planta crece en la región occidental de la Amazonía, habitando bosques aluviales y temporalmente inundables, formando zonas denominadas "sacha manguales" o "manchales de Sacha mangua". Es una especie muy productiva ya que las plantas producen frutos desde que alcanzan los 20 cm. de alto, aprovechándose la semilla, la flor y la pulpa del fruto.

En medicina tradicional se utiliza la semilla para el tratamiento de la sinusitis extrayendo el zumo e instilando en las fosas nasales. Para el acné se aplica bajo la forma de emplastos en la zona afectada; como laxante y depurativo se hace beber el zumo de las semillas como laxante, emético y antiinflamatorio en cocimiento, así como para evitar la hemorragia uterina se usa bajo la forma de infusión. El fruto también es usado como alimento cortado en rodajas y mezclado con harina de yuca tostada o fariña.³⁰

Así mismo las hojas jóvenes se trituran en agua y se beben para facilitar el parto.³¹

2.2. Fitoquímica.

La fitoquímica es el estudio de los fitoquímicos, que son productos químicos derivados de las plantas. Específicamente, la fitoquímica describe el gran número de compuestos metabólicos secundarios (Metabolitos secundarios) encontrados en las plantas. Muchos de estos son conocidos por proporcionar protección contra ataques de insectos y enfermedades de las plantas. También exhiben una serie de funciones de protección para los consumidores humanos.³² Tiene como objetivo el aislamiento, análisis, purificación, elucidación de la estructura y caracterización de la actividad biológica de distintas sustancias producidas por los vegetales; e incluye la extracción y evaluación cualitativa y cuantitativa de los componentes químicos de las plantas.³³

Así mismo trata sobre los métodos de obtención de esos componentes activos, su clasificación de acuerdo al grupo funcional químico orgánico a que pertenece y estudia los métodos analíticos para comprobar su calidad.³⁴

2.2.1. Estudios fitoquímicos del género *Grias*.

2.2.1.1. *Grias neuberthii* Macbr.

Los análisis efectuados a la pulpa del fruto muestran la presencia de lípidos en un 18% y de carotenos con 2.23 mg/100g (Brack, 1999), alimentos esenciales en la dieta humana y animal.

En estudios fitoquímicos realizados a la pulpa de la fruta del sachamango mediante el uso de tres diferentes disolventes apolares y polares, así como extracción con CO₂ presurizado, se obtuvieron ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados como: mirístico (1), pentanoico (2), palmítico (3), margárico (4), esteárico (5), araquírico (6), palmitoleico (7), oleico (8), gadoleico (9), erúxico (10), linoleico (11), linolénico (12).

De los ácidos grasos saturados (27.36%) el ácido palmítico (24.39%) es el mayoritario y es muy común encontrarlo en los vegetales, no así el ácido margárico (0.14%) ya que se encuentra mayoritariamente en las grasas de animales y en pocos casos en

grasas vegetales. Los ácidos grasos monoinsaturados (51.11%), generalmente presentan el doble enlace entre los carbonos 9 y 10, el alto contenido del ácido oleico (45.31%) indica la alta calidad que puede tener la industrialización del aceite comestible de este fruto, ya que es superado solamente por el olivo, cártamo y cantidad similar en la manteca de cerdo y el maní.

Los ácidos linoleico (18.17%) y linolénico (1.73%), son ácidos grasos poliinsaturados (19.90%), y además de ser considerados esenciales porque el organismo no puede sintetizarlos. Estos compuestos tienen que ser consumidos del 1 al 2% del total de los lípidos porque tienen la propiedad de ser antioxidantes.²⁷

Además se reporta la identificación de compuestos orgánicos volátiles que contienen nitrógeno como: indol (**13**) y 3-metilbutanonitrilo (**14**).³⁵ Ver figura 3.

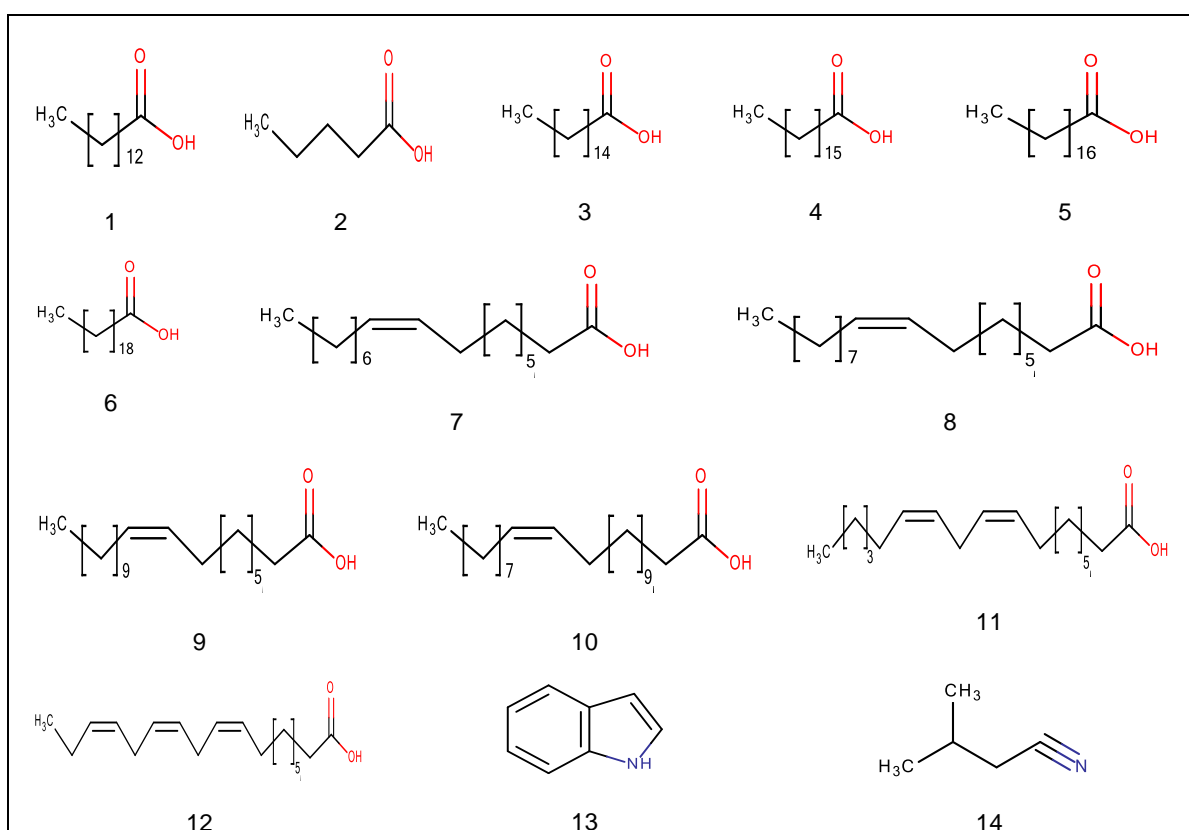


Figura 3. Estructura de los metabolitos secundarios identificados de *Grias neuberthii*

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras

2.2.1.2. *Grias peruviana* Miers.

Un estudio de las semillas para determinar su actividad antimicrobiana y antiinflamatoria, previo estudio fitoquímico, estableció que el contenido de proteínas en las semillas es mayor que en el propio fruto (9.41 %). Así mismo se ha identificado la presencia de sapogeninas, esteroides y taninos. Se ha realizado ensayos para determinar la actividad antibacteriana y antiinflamatoria, para lo cual se empleó

extractos hidroalcohólicos sometidos a pruebas de actividad antibacteriana, así como en procesos inflamatorios.

Las pruebas realizadas muestran que la semilla ejerce una actividad bactericida sobre cepas de: *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomona aeruginosa*, y *bacteriostática*, sobre *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella tiphy*, *Cándida albicans*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger* y *Propionibacterium acnes*. Esta última actividad ha despertado interés, para ensayar el producto en el tratamiento del acné. Se ha elaborado un gel a base de extracto seco y se viene realizando ensayos clínicos en pacientes que presentan acné, con resultados bastante satisfactorios.³⁰

Así mismo estudios reportan la identificación de compuestos orgánicos volátiles que contienen nitrógeno como: indol (**15**) y 3-metilbutanonitrilo (**16**).³⁵ En esencias florales se reconoció la presencia del éster derivado de ácidos grasos, acetato de 2-metilpropilo (**17**).³⁶ Ver figura 4.

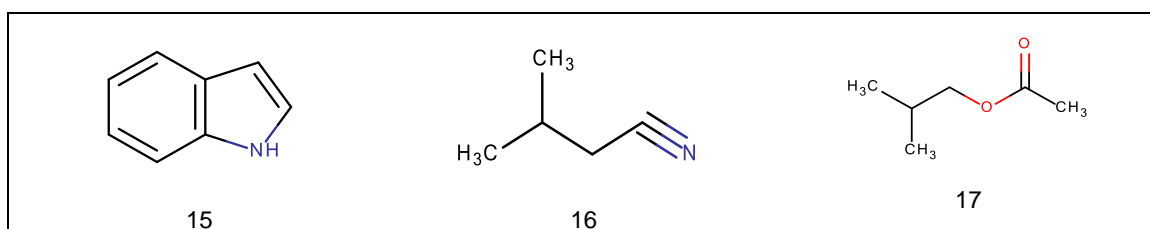


Figura 4. Estructura de los metabolitos secundarios identificados de *Grias peruviana*

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras

2.2.2. Algunas técnicas de aislamiento, identificación y caracterización de metabolitos secundarios.

2.2.2.1. Cromatografía.

Permite separar los componentes o solutos de una mezcla sobre la base de las cantidades relativas de cada soluto distribuidas entre una corriente de fluido móvil, denominada fase móvil, y una fase estacionaria contigua. La fase móvil puede ser un líquido o un gas, mientras que la fase estacionaria es un sólido o un líquido.³⁷

2.2.2.1.1. Cromatografía en columna.

La cromatografía en columna es uno de los métodos más útiles para la separación y purificación tanto de sólidos como de líquidos. Esta es una técnica sólido - líquido en la que la fase estacionaria es una fase sólida y móvil es un líquido. El principio de la cromatografía en columna se basa en la adsorción diferencial de la sustancia por el adsorbente.³⁸

Los mismos principios usados en la cromatografía de capa fina se pueden aplicar a mayor escala para separar las mezclas en cromatografía en columna.³⁹

2.2.2.1.2. Cromatografía en capa fina.

La cromatografía de capa fina o (Thin-layer chromatography) TLC por sus siglas en inglés, es una técnica muy comúnmente utilizada en química sintética para identificar compuestos, determinar su pureza y seguir el progreso de una reacción. También permite la optimización del sistema disolvente para un problema de separación dado. En comparación con la cromatografía en columna, sólo requiere pequeñas cantidades del compuesto y es mucho más rápida también.⁴⁰

2.2.2.1.3. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

La cromatografía de gases por espectrometría de masas (GC/MS) es una técnica instrumental que comprende un cromatógrafo de gases (GC) acoplado a un espectrómetro de masas (MS), mediante el cual pueden separarse, identificarse y cuantificarse mezclas complejas de sustancias químicas.⁴¹

Los análisis GC-MS pueden trabajar en muestras líquidas, gaseosas y sólidas, pero se limitan principalmente a compuestos volátiles y semi-volátiles. Consiste esencialmente en que una muestra que se volatiliza y se transporta por un gas inerte a través de una columna capilar de vidrio revestida. La "fase estacionaria" está unida al interior de la columna. El tiempo que se tarda un compuesto específico para pasar a través de la columna a un detector se llama su "tiempo de retención", que puede ser utilizado para la identificación en comparación con una referencia.⁴²

2.2.2.2. Punto de fusión.

El punto de fusión es la temperatura de cambio del estado sólido al estado líquido. Para que esto ocurra es necesario que se rompan las fuerzas intermoleculares que mantienen cohesionados en una estructura cristalina las moléculas de un compuesto y por tanto su valor dependerá del balance de las diferentes fuerzas intermoleculares. Por ello, dos compuestos diferentes, aunque presenten estructuras similares, tendrán diferentes puntos de fusión y por tanto una de las utilidades de la determinación del punto de fusión es la posibilidad de identificar sustancias.

Además, la presencia de impurezas, incluso en pequeñas cantidades, produce una disminución del punto de fusión, acompañado generalmente de un incremento del intervalo en que funde, por ello otra de las utilidades de la medida del punto de fusión es como criterio de pureza de un determinado compuesto.⁴³

2.2.2.3. *Cristalización.*

Es la técnica más simple y eficaz para purificar compuestos orgánicos sólidos. Consiste en la disolución de un sólido impuro en la menor cantidad posible del disolvente adecuado en caliente. En estas condiciones se genera una disolución saturada que al enfriar se sobresatura produciéndose la cristalización. El proceso de cristalización es un proceso dinámico, de manera que las moléculas que están en la disolución están en equilibrio con las que forman parte de la red cristalina. El elevado grado de ordenación de una red cristalina excluye la participación de impurezas en la misma. Para ello, es conveniente que el proceso de enfriamiento se produzca lentamente de forma que los cristales se formen poco a poco y el lento crecimiento de la red cristalina excluya las impurezas. Si el enfriamiento de la disolución es muy rápido las impurezas pueden quedar atrapadas en la red cristalina.⁴⁴

2.2.2.4. *Resonancia nuclear magnética.*

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es la herramienta analítica que proporciona mayor información estructural y estereoquímica de un compuesto en un tiempo asequible.

Se fundamenta en la absorción de energía (radiofrecuencias) por un núcleo magnéticamente activo, que está orientado en el seno de un campo magnético, y que por efecto de esa energía cambia su orientación.⁴⁵

La RMN o espectroscopia de resonancia magnética nuclear es una técnica usada para determinar la estructura única de un compuesto. Identifica la estructura de carbono-hidrógeno de un compuesto orgánico.⁴⁶

En muchos casos informa sobre la forma y simetría con un grado de precisión mayor de lo que es posible con otras técnicas espectroscópicas.⁴⁷

CAPÍTULO III

3. Materiales y métodos

3.1. Metodología empleada para etnomedicina.

En la figura 5 se muestran los métodos empleados para llevar a cabo esta investigación, en lo concerniente a la parte de etnomedicina.

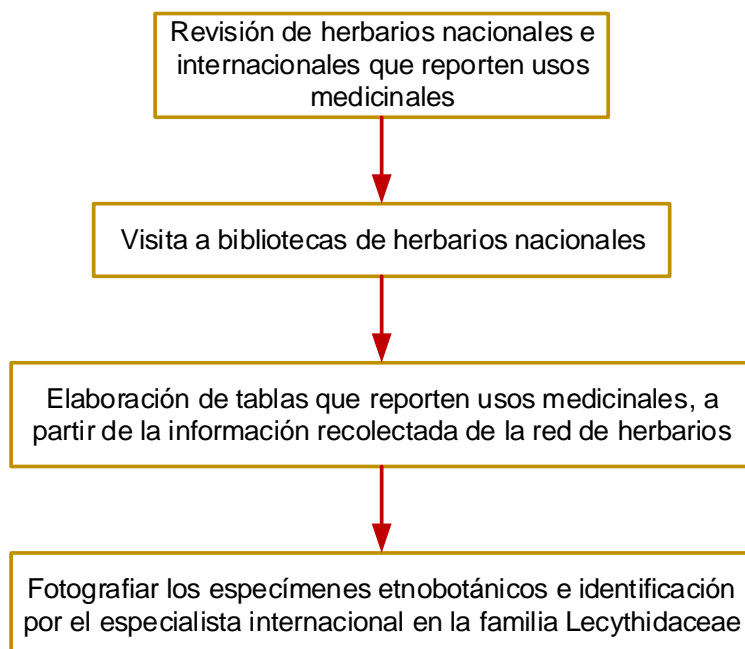


Figura 5. Esquema de metodología para etnomedicina.

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras

3.1.1. **Revisión de herbarios nacionales e internacionales.**

Se realizó una revisión detenida en herbarios internacionales como: Missouri Botanical Garden (MO), New York Botanical Garden (NY) y el de la Universidad de Aarhus (AAU), a través de sus plataformas en internet, especificando la búsqueda como la referida a Ecuador, considerando solo aquellos vouchers que reportan uso medicinal. De la misma forma se efectuó la revisión en herbarios nacionales: el de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (QCA), Herbario Nacional de Ecuador (QCNE), y Herbario “Reinaldo Espinosa” de la Universidad Nacional de Loja (LOJA) mediante la visita a dichos herbarios, cabe recalcar que estos fueron aquellos donde habían colecciones de las especies *Grias* en Ecuador, sin embargo se hizo la consulta vía telefónica, o mediante correo electrónico a todos los herbarios del país.

3.1.2. **Identificación en la familia de los especímenes.**

Luego de haber realizado una búsqueda tanto en herbarios nacionales como internacionales, se procedió a la validación de la identificación de las especies que reportan usos medicinales en vouchers de todos los herbarios del Ecuador con ayuda

del especialista mundial del Género *Grias* el Magister Xavier Cornejo, registrándose 21 especímenes de herbario ver anexo 1.

3.1.3. **Uso medicinal de *Grias neuberthii* Macbr., & *Grias peruviana* Miers.**

Una vez que se recabó la información etnomédica mediante la revisión de los vouchers en los herbarios mencionados anteriormente, se identificaron: los principales grupos étnicos que les atribuían dichos usos medicinales a ambas especies, los nombres vernáculos con los que eran denominadas estas especies, la estructura morfológica utilizada para los diferentes padecimientos, el uso etnomédico y finalmente a través de las coordenadas la ubicación específica donde se encuentran ambas especies de *Grias* en nuestro país, luego se elaboró bases de datos que contienen toda esta información tanto de herbarios internacionales como nacionales.

3.2. **Esquema de metodología empleada para fitoquímica.**

En la figura 6 se muestra la metodología utilizada para la evaluación fitoquímica de las dos especies de *Grias*.

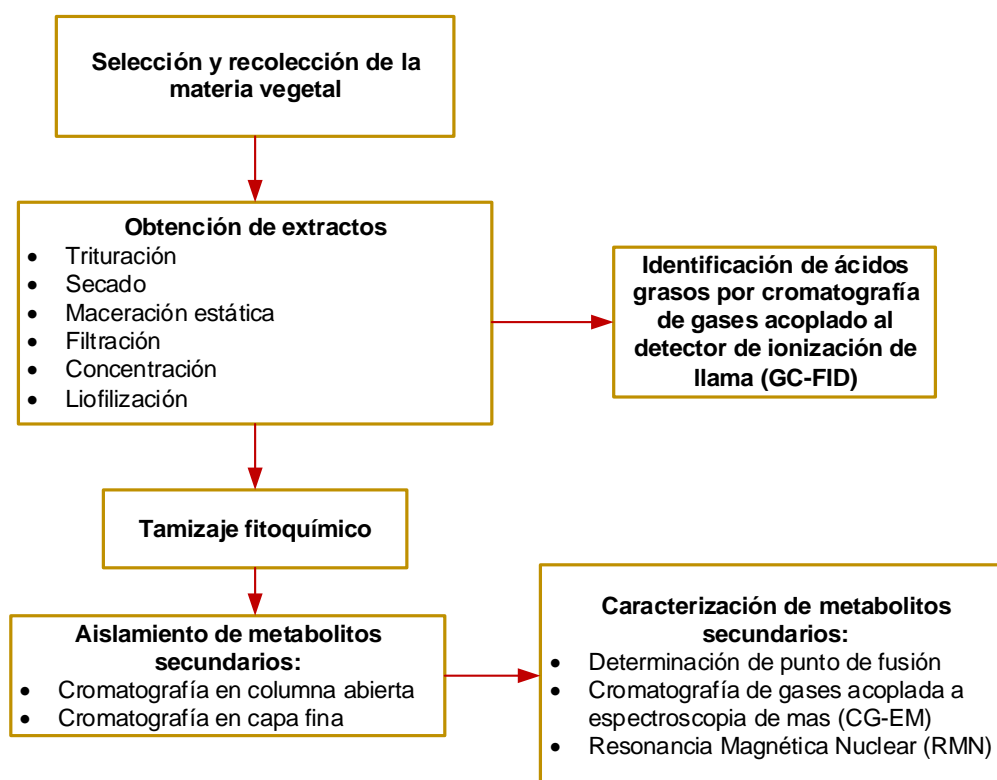


Figura 6 Esquema de metodología para fitoquímica

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras.

3.2.1. Selección y recolección de la materia vegetal.

La selección de la especie vegetal se realizó en base a información bibliográfica. El proceso de recolección de la especie *Grias peruviana* se llevó a cabo en la Quinta Experimental el Padmi, ubicada en el cantón El Pangui, en la provincia de Zamora Chinchipe en Ecuador, con coordenadas S 03°44'28.69"; W 78°36'56.08" a 807 msnm, mientras que la especie *Grias neuberthii* fue recolectada en una finca en Lumbaqui, ubicada en la provincia Sucumbíos en Ecuador, con coordenadas S 00°01'46"; W 77°10'24 a 366 msnm. Una vez identificadas las especies un comprobante de cada ejemplar fue depositado en el Herbario de la Universidad Nacional de Loja, Ecuador con el número de voucher 49, identificados por el MSc. Xavier Cornejo y Zhofre Aguirre, PhD.

3.2.2. Obtención de extractos.

3.2.2.1. Maceración estática.

Inicialmente la materia vegetal se clasificó en sus diferentes estructuras morfológicas como son: hojas, tallos, mesocarpo, epicarpo, endocarpo, y embrión, clasificadas las estructuras se trituraron, para lo cual se partió de 4.09 Kg de especie *Grias peruviana*, y 1.35 Kg de *Grias neuberthii* posteriormente se sometieron a un proceso de secado en un secadero de bandejas con flujo de aire una temperatura de 35°C por el lapso de 3 a 5 días o hasta que haya invariabilidad de humedad, por separado a cada estructura se la maceró en frascos Boeco de 1000ml utilizando 700ml de disolvente, mientras que las hojas debido a que se contó con mayor cantidad se las maceró en tachos de vidrio utilizando 5 litros de disolvente. Cada maceración fue realizada en periodos de 3 días, para ello se utilizó disolventes con polaridad ascendente iniciando con hexano (Hex), luego acetato de etilo (AcOEt) y finalmente metanol (MeOH), transcurrido el tiempo de maceración se procedió a filtrar al vacío, el líquido obtenido fue colocado en un rotaevaporador Buchi modelo R - 210. A presión reducida y entre 30 y 35 °C a fin de eliminar el disolvente; de esta forma se obtuvo los diferentes extractos, se llevaron a cabo tres extracciones con cada disolvente. Se determinó el rendimiento de cada uno de los extractos, haciendo uso de la relación entre la cantidad de extracto obtenido y la cantidad de materia vegetal seca utilizada. Los extractos fueron almacenados a 4°C para su posterior uso.

3.2.2.2. Liofilización.

Se realizó tres infusiones con agua, de cada estructura morfológica de la especie *Grias peruviana*: flores, tallos, semillas, fruto y hojas con un peso húmedo de 259.33 g,

936.99 g, 853.47 g, 850.74 g, y 212.9 g respectivamente, y con un volumen de 250 ml de agua destilada, previamente hervida para cada parte de la especie vegetal. Se filtró a presión reducida y el filtrado se colocó en 5 frascos Boeco por separado según la estructura morfológica de la especie, se procedió a taparlos herméticamente para luego llevarlos a congelación a -18°C, teniendo en cuenta que los frascos Boeco se encuentren con una inclinación aproximada de 25°. Para la obtención de extractos se utilizó un proceso de liofilización que se basa en sublimar el hielo, este proceso tuvo un tiempo de duración de 24 horas por cada frasco, obteniendo así los extractos liofilizados, mismos que fueron pesados.

Se determinó el rendimiento de cada uno de los extractos, haciendo uso de la relación entre la cantidad de extracto obtenido y la cantidad de materia vegetal utilizada, mediante la siguiente formula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Cantidad de extracto obtenido (Kg)}}{\text{Cantidad de materia vegetal fresca (Kg)}} * 100$$

Formula (1)

3.2.3. Identificación de ácidos grasos por cromatografía de gases acoplado al detector de ionización de llama (GC-FID).

Se inició la determinación de ácidos grasos empleando la metodología descrita en la tesis de pre-grado de Cadme and Calva ⁴⁸, para lo cual se pesó 0.1 g de extracto hexánico de fruto en tubos de centrifuga de ambas especies por separado, posterior a ello se adicionó 2 ml de n-hexano a cada tubo, se tapó y se agitó hasta disolver la grasa, luego se colocó 0.2 ml de solución metanólica de KOH 2N, se llevó a agitación por el lapso de 30 segundos y se centrifugó durante 10 minutos a 200 rpm. Finalmente se colocó la muestra preparada en viales ámbar para su inyección en el equipo.

A continuación en las siguientes tablas se muestran las condiciones del equipo con las cuales se realizó la determinación de ácidos grasos.

Tabla 1. Especificaciones del Horno del Cromatógrafo

Initial temp:	50 °C (On)		
Initial time:	1 min		
Ramps:			
#	Rate	Final temp	Final time
1	25 °C/min	175	0.00
2	4 °C/min	215	0.00
3	2.5 °C/min	230	8.00

4	0.0 Off		
Post temp:	0.0	0°C	
Post time:	0.00	min	
Run time:	29.75	min	

Fuente: Cadme and Calva ⁴⁸
 Elaboración: Cadme and Calva ⁴⁸

Tabla 2 Especificaciones de la entrada posterior

Mode:	Split
Initial temp:	250 °C (On)
Pressure:	33.40 psi (On)
Split ratio:	
Split flow:	103.1 mL/min
Total flow:	107.7 mL/min
Gas saver:	Off
Gas type:	Helium

Fuente: Cadme and Calva ⁴⁸
 Elaboración: Cadme and Calva ⁴⁸

Tabla 3 Especificaciones de la Columna Cromatográfica

Capillary Column:	
Model Number:	Agilent 122-2362 DB-23
Max temperature:	250 °C
Nominal length:	60.0 m
Nominal Diameter:	250.00 µm
Nominal film thickness:	0.25 µm
Mode:	constant pressure
Pressure:	33.0 psi
Nominal initial flow:	2.1 mL/min
Average velocity:	33 cm/sec
Inlet:	Back Inlet
Outlet:	Back Detector
Outlet pressure:	ambient

Fuente: Cadme and Calva ⁴⁸
 Elaboración: Cadme and Calva ⁴⁸

Tabla 4 Especificaciones del Detector (FID)

Temperature:	280 °C (On)
Hydrogen Flow:	30.0 mL/min (On)
Air Flow:	300.0 mL/min (On)
Mode:	Constant makeup flow
Flow:	0.0 mL/min (Off)
Makeup Gas Type:	Nitrogen
Flame:	On
Electrometer:	On
List offset:	2.0

Fuente: Cadme and Calva ⁴⁸
Elaboración: Cadme and Calva ⁴⁸

Tabla 5 Especificaciones de la Señal

Data rate:	20 Hz
Type:	back det-col comp 2
Save Data:	On
Zero:	15.5 (Off)
Range:	0
Fast Peaks:	Off
Attenuation:	0

Fuente: Cadme and Calva ⁴⁸
Elaboración: Cadme and Calva ⁴⁸

Tabla 6 Especificaciones del Inyector Automático 7683 series

Sample Washes:	3
Sample Pumps:	6
Injection Volume:	1.0 microliters
Syringe Size:	10.0 microliters
PostInj Solvent A Washes:	3
PostInj Solvent B Washes:	0
Voscosity Delay:	0 seconds
Plunger Speed:	Fast
PreInjection Dwell:	0.00 minutes
PostInjection Dwell:	0.00 minutes

Fuente: Cadme and Calva ⁴⁸
Elaboración: Cadme and Calva ⁴⁸

Para el cálculo de la determinación de la concentración de ácidos grasos presentes en ambas especies, se realizó curvas de calibración a diferentes concentraciones de los ácidos grasos identificados en las dos especies, obteniendo una linealidad con un coeficiente de correlación (R^2) igual a 0.99, con lo cual confirmamos que los datos son directamente proporcionales a la concentración final. Dichas curvas se muestran en el anexo 3. Los datos utilizados para construir las curvas de calibración fueron tomados de Cadme and Calva ⁴⁸

3.2.4. Aislamiento de metabolitos secundarios.

3.2.4.1. Unión de extractos.

Los extractos obtenidos de las estructuras morfológicas de ambas especies que presentaron un perfil cromatográfico similar se unieron.

3.2.4.2. Tamizaje fitoquímico.

Según bibliografía se realizó tamizaje fitoquímico a los extractos obtenidos.

⁴⁹ Con la ayuda de una espátula se colocó una pequeña cantidad de la muestra en tubos de ensayo individuales, luego se solubilizó con etanol las muestras excepto aquellas que se utilizó para evaluar la presencia de terpenos-esteroides. Posteriormente se realizó los siguientes ensayos:

Determinación de proteínas (Ensayo de Ninhidrina): Se agregó dos gotas de una solución de ninhidrina al 2% al extracto. Una coloración púrpura-azul indica la presencia de aminoácidos. Se utilizó como estándar el ácido glutámico.

Determinación de carbohidratos - azúcares reductores (Ensayo de Fehling): Se adicionó 1ml de Fehling 1 y 1ml de Fehling 2, luego se calentó de 5-10 min (cerca del punto de ebullición si es necesario). El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. Fructosa fue utilizada como estándar.

Determinación de grasas (Ensayo de Sudán): Se adicionó 1 ml de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Luego se calentó en baño de agua hasta evaporación del solvente. La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayo. Se utilizó como estándar la glicerina.

Determinación de alcaloides (Ensayo de Wagner y Dragendorff):

Ensayo de Wagner: Se adicionó a la muestra una gota de ácido clorhídrico concentrado (calentar suavemente y dejar enfriar), posterior a ello se agregó unas gotas del reactivo de Wagner. Si se observa opalescencia (+), turbidez definida (++), precipitado coposo (+++).

Ensayo de Dragendorff: Se adicionó a la muestra una gota de ácido clorhídrico concentrado (calentar suavemente y dejar enfriar), luego se agregó unas gotas del reactivo de Dragendorff. Si se observa opalescencia (+), turbidez definida (++), precipitado coposo (+++). Se utilizó como estándar la Fracción alcaloidea de una especie de la familia Huperzia.

Determinación de terpenos-esteroides (Ensayo de Lieberman Burchard): Se disolvió la alícuota del extracto seco con 1 ml de cloroformo, luego se adicionó 1 ml de anhídrido acético y se mezcló bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejó resbalar 2 - 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

- Rosado-azul muy rápido.
- Verde intenso-visible aunque rápido.

-Verde oscuro-negro-final de la reacción.

Se utilizó como estañar la resina de *Parthenium argentatum*

Determinación de Saponinas (Ensayo de espuma): A la muestra que se solubilizó en etanol se procedió a diluirla cinco veces su volumen con agua destilada, luego se agitó la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persiste por más de 2 minutos. Se utilizó como estándar papa.

Determinación de Quinonas (Ensayo de Borntrager): Se disolvió la alícuota del extracto en 1 ml de cloroformo, luego se adicionó 1 ml de hidróxido de sodio, de potasio o amonio al 5% en agua. Se agitó mezclando las fases y se dejó en reposo hasta su separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++).

3.2.4.3. Montaje de columna.

A los extractos con mayor actividad antitumoral (esta determinación parte de otra tesis de licenciatura): unión 4 correspondiente al extracto de acetato de etilo (GPU4A), unión 5 correspondiente al extracto de metanol (GPU5M) de la especie *Grias peruviana*, fruto metanol (GNFM) y tallos metanol (GNTM) de la especie *Grias neuberthii*, se les realizó cromatografía, inicialmente se montó columna de 300mg, 20g, 8g y 5g respectivamente de cada extracto.

En el montaje de estas columnas se utilizó silica gel 60 (0.015-0.040 mm) como fase estacionaria, para su elución se utilizaron mezclas de disolventes de distintas polaridades: hexano, acetato de etilo, metanol y agua en varias proporciones, se efectuó la recolección de separaciones y posterior a ello se cromatografió en capa fina a cada una de estas, a fin de determinar similitud de perfil cromatográfico que permita su unión.

En la tabla 7 se muestran las características principales con las que se realizó el montaje de columna de cada uno de los extractos antes mencionado.

Tabla 7. Condiciones para cromatografía en columna abierta de extractos de *Grias neuberthii* y *Grias peruviana* con mayor actividad antitumoral.

Condiciones de elución de cromatografía en columna abierta						
Extracto	Peso extracto	Relación extracto :sílica	Dimensiones		Polaridades	Volumen de separaciones
			Diámetro (cm)	Altura (cm)		

GPU4A	300mg	1:25	2	30	Hex:AcOEt 9:1 Hex:AcOEt 8.5:1.5 Hex:AcOEt 8:2 Hex:AcOEt 7.5:2.5 Hex:AcOEt 7:3 Hex:AcOEt 6:4 Hex:AcOEt 1:1 Hex:AcOEt 2.5:7.5 Hex 100% AcOEt:MeOH 7.5:2.5	8ml
GPU5M	20g	1:25	6.5	75	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1 MeOH 100% MeOH:H ₂ O 9:1	8ml
GNFM	8g	1:14	4	56	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1 AcOEt:MeOH 1:1 MeOH 100%	20ml
GNTM	5g	1:22	4	56	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1 AcOEt:MeOH 1:1 MeOH 100% MeOH:H ₂ O 9:1	5ml

Fuente: Autoras
Elaboración: Autoras



Figura 7. Montaje y elución en columna abierta.
Fuente: Autoras.
Elaboración: Autoras

3.2.4.4. *Cromatografía en capa fina.*

Producto de la cromatografía en columna abierta se recolectaron fracciones de 8ml, las cuales fueron sembradas en placas de aluminio cubiertas de sílice gel 60 F₂₅₄, siendo eluidas en polaridades preparadas con mezclas de disolventes como: hexano, acetato de etilo y metanol en varias proporciones, y sílice gel C18, la visualización se la realizó en luz UV 254 y 365 nm, cada placa fue revelada con ácido sulfúrico al 5% y vainillina al 1%.

3.2.4.5. *Unión y purificación.*

La unión de fracciones fue realizada mediante la identificación de la similitud del perfil cromatográfico de cada fracción que consiste en aspectos visuales similares de: R_f en la placa de sílice gel luego de reveladas así como también las características observadas en la luz ultravioleta de 254 y 365nm.

Se procedió a purificar los compuestos, esto en base al grado de solubilidad de los mismos, para ello se probó disolviendo pequeñas alícuotas de cada compuesto en diferentes disolventes, determinado así cual fuera el más óptimo para efectuar el lavado de los mismos.

3.2.4.6. *Microcolumna.*

Se efectuó el fraccionamiento en microcolumna de las fracciones: GNFMF4 correspondiente a la fracción 4 obtenida de la columna del extracto de fruto metanol (GNFM), GNFMF4F2 de la fracción 2 obtenida de la microcolumna de la fracción 4 de la columna de fruto metanol, GNFMF4F3 de la fracción 3 obtenida de la microcolumna de la fracción 4 de la columna de fruto metanol, GNFMF5 de la fracción 5 obtenida de la columna del extracto de fruto metanol (GNFM), siendo todas estas de la especie *Grias neuberthii*, utilizando una columna de 2 cm de diámetro y 30 cm de altura de cuerpo, sílice gel 60 (0.015-0.040mm) como fase estacionaria, para su elución se emplearon mezclas de disolventes como: hexano, acetato de etilo y metanol en diferentes proporciones. Se recolectaron separaciones a las cuales se les realizó cromatografía en capa fina, para luego ser unidas mediante similitud en su perfil cromatográfico.

La tabla 8 muestra las condiciones que se utilizó para la elución de las micro columnas de las fracciones obtenidas por cromatografía en columna abierta.

Tabla 8. Condiciones para montaje de microcolumna de las fracciones obtenidas de cromatografía en columna.

Condiciones de elución de micro columna de fracciones				
Extracto	Peso	Relación	Polaridades	Volumen de

	extracto (mg)	extracto:silica		separaciones (ml)
GNF4MF4	198	1:25	Hex:AcOEt 3:7 Hex:AcOEt 1:1 AcOEt 100% AcOEt:MeOH 1:1 MeOH 100%	8
GNF4MF4F2	148	1:40	Hex 100% Hex:AcOEt 9.5:0.5 Hex:AcOEt 9:1 Hex:AcOEt 8.5:1.5 Hex:AcOEt 8:2 Hex:AcOEt 7:3 Hex:AcOEt 6:4 AcOEt 100% AcOEt:MeOH 1:1 MeOH 100%	5
GNF4MF4F3	19.7	1:150	Hex 100% Hex:AcOEt 9.5:0.5 Hex:AcOEt 8.5:1.5 Hex:AcOEt 8:2 Hex:AcOEt 6:4 Hex:AcOEt 1:1 Hex:AcOEt 4:6 Hex:AcOEt 3:7 Hex:AcOEt 2:8 AcOEt 100% AcOEt:MeOH 1:1 MeOH 100%	5
GNF4MF5	147.6	1:125	Hex:AcOEt 8:2 Hex:AcOEt 1:1 Hex:AcOEt 2:8 AcOEt 100% AcOEt:MeOH 1:1 MeOH 100%	8
GNTMF13	194.8	1:154	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5 MeOH 100%	5
GNTMF13F1	87	1 :150	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5 MeOH 100% MeOH:H ₂ O 9:1	8
GPU5MF5	108.8	1:185	Hex:AcOEt 3:7 AcOEt 100 % AcOEt:MeOH 1:1	5
GPU5MF5F11	24	1:750	AcOEt 100% AcOEt:MeOH 9:1 AcOEt:MeOH 1:1 MeOH 100%	5

GPU5MF5F12	19	1:750	AcOEt 100% AcOEt:MeOH 9.05:0.5 AcOEt:MeOH 9:1 AcOEt:MeOH 8.5:1.5 AcOEt:MeOH 8:2 AcOEt:MeOH 1:1 MeOH 100%	5
------------	----	-------	--	---

Fuente: Autoras
Elaboración: Autoras

3.2.5. Caracterización de metabolitos secundarios.

3.2.5.1. Punto de fusión.

Ya purificados los metabolitos secundarios, se determinó su punto de fusión utilizando un equipo Fisher Johns, serial 40-22 de 50-60 Hz. Los puntos de fusión no fueron corregidos.

3.2.5.2. Factor de retención.

El factor de retención fue determinado para cada uno de los compuestos aislados, este factor relaciona la distancia recorrida por la muestra (desde el punto de siembra) y la distancia recorrida por el disolvente. Expresado mediante la siguiente formula:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra}}{\text{Distancia recorrida por el disolvente}}$$

Formula (2)

3.2.5.3. Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG/EM).

Para determinar los espectros de masas se utilizó un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies 6890N), acoplado a un espectrómetro de masas (Agilent Technologies 5973 inert), y columnas cromatográficas como BSNS y HP INNOWax.

3.2.5.4. Resonancia magnética nuclear.

Mediante el equipo de resonancia magnética nuclear modelo Varian 400 MHz-Premium Schelded se obtuvieron los espectros de RMN tanto de ¹H y ¹³C a 400 y 100 MHz respectivamente, para la disolución de la muestras se empleó disolventes deuterados. Los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento (J) fueron expresadas en partes por millón (ppm) y Hz respectivamente.

CAPÍTULO IV

4. Resultados y discusión

4.1. Usos medicinales reportados en herbarios internacionales.

4.1.1. *Grias neuberthii* Macbr.

En la tabla 9 se muestra la información que se recabó en herbarios internacionales acerca de los usos medicinales atribuidos a la especie *Grias neuberthii*.

Tabla 9. Reporte de usos medicinales de *Grias neuberthii* en herbarios internacionales

Usos medicinales de <i>Grias neuberthii</i> reportados en vouchers etnobotánicos de Ecuador						
Provincia	Grupo étnico	Nombre vernáculo(s)	Uso	Estructura morfológica de la planta usada	Espécimen de Herbario y colector (es)	Coordenadas
Napo	Kichwa	Piton	Dolor estomacal, tratamiento de placenta, depuración estomacal luego del parto	Corteza del fruto	2828 (AAU) H. Balslev	00°26'00"S 076°38'00"O
Napo	Kichwa	Piton	Hemético, antitumoral	Corteza, Semilla	2852 (AAU) H. Balslev	00°28'S 076°33'O
Napo	Kichwa	Piton, pitun	Hemético, malaria	-	1002 (MO) E. Kohn	01°00'S 077°40'O
Napo	Kichwa		Hemético, malaria	Semilla	7790 (MO) D. Neill, et al	01°01'S 077°36'O
Napo	Kichwa	Pitón	Hemético	Corteza del fruto	8683 (MO) D. Neill, et al	01°02'S 077°57'O
Napo	Kichwa	Pitón	Hemético, paludismo	semilla, corteza del tallo	11963 (MO) C. Cerón, R. Salazar	00°54'S 077°49'O
Sucumbíos	Kichwa	Pitón	Dolor estomacal, tratamientos después del parto	Semilla	2828 (QCA) H. Balslev, S. Dea	-
Orellana	Kichwa	Pitón	Hemético, antitumoral	Corteza, Semilla	2852 (QCA) H. Balslev, S. Dea	-
Napo	Kichwa	Pitón	Baños postparto (recuperación)	Corteza, Semilla	362 (QCA) M. Rios et al.	-
Orellana	Kichwa	Pitón	Forúnculos y golpes, hemorragia uterina, abortos, esterilidad	Corteza del tallo	57 (QCA) R. Alarcón	-
Morona Santiago	Shuar	Apajj	Diarrea	fruto y corteza del fruto	8255 (QCQ) W. Van Asdall	-

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras.

Los usos medicinales reportados en herbarios internacionales de la especie *Grias neuberthii* Macbr muestran que los grupos étnicos: Kichwa y Shuar le dan un uso mayoritario como hemético (semilla) en un 28.57 %, y en un menor porcentaje en usos como: dolor estomacal (corteza del fruto) con 9.52 %, tratamiento de placenta (corteza del fruto) con 4.76 %, depuración estomacal postparto (corteza del fruto) con 4.76 %, antitumoral (semilla) con 9.52 %, malaria (semilla) con 9.52 %, paludismo (corteza del tallo) con 4.76 %, baños postparto con 4.76 (corteza) %, forúnculos y golpes (corteza del tallo) con 4.76 %, hemorragia uterina (corteza del tallo) con 4.76 %, abortos (corteza del tallo) con 4.76 %, esterilidad (corteza del tallo) con 4.76 % y diarrea (fruto) con 4.76 %.

4.1.2. *Grias peruviana* Miers.

La tabla 10 muestra la información obtenida de la revisión de herbarios internacionales en vouchers etnobotánicos que reportaron usos medicinales para *Grias peruviana*.

Tabla 10. Reporte de usos medicinales de *Grias peruviana* en herbarios internacionales

Usos medicinales de <i>Grias peruviana</i> reportados en vouchers etnobotánicos de Ecuador						
Provincia	Grupo étnico	Nombre vernáculo(s)	Uso	Estructura morfológica de la planta usada	Espécimen de Herbario y colector (es)	Coordenadas
Morona Santiago	Shuar	Apai	Disentería	Semilla	RBAE2000 (MO), QCNE H. Jimpikit	03°26'00"S 078°31'00"O
Morona Santiago	Shuar	Apay, apai	Anticonceptivo, esterilidad, leishmaniasis cutánea	Corteza, semilla	105 (MO) C.F. Limbach	02°37'S 077°38'O
Orellana	Shuar	Apai	Descongestionante, antidiarreico	Fruto, hoja	001 (MO) W. Guerrero y A. Herrera	00°50'57"S 077°55'00"O
Orellana	Waorani	Vengaka	Antipirético	Fruto	403 (MO, QCNE) B. Freire y D. Naranjo	00°59'06"S 076°50'55"O
Pichincha	-	-	Energizante	Corteza del tallo	40121 (AAU) L. Kvist; L. B Holm- Nielsen	00°21'S 079°22'O
Pichincha	Tsáchila	Tsoda	Energizante	Corteza del tallo	40220 (AAU) L. Kvist; L. B Holm- Nielsen	00°21'S 079°22'O
Zamora Chinchipe	Shuar	Apay, aguacate de monte	Cólicos estomacales	Semilla	8261 (MO) W. Palacios; G. Aymard; E. Freire	00°21'S 079°22'O

Morona Santiago	Shuar	Apai	Antiparasitario, lavado rectal	Parte interna de la semilla	093 (NY) P. Mendoza; M. Vega	02°37' S, 77° 47' O
Morona Santiago	Shuar	Apay, apai	Anticonceptivo, esterilidad	Corteza, semilla	105 (NY) C.F. Limbach	02°37' S, 77° 38' O
Santo Domingo de los Tsáchilas	Tsáchila	Tsoda	Energizante	Corteza del tallo	40220 (NY) L. Kvist; L. B Holm- Nielsen	00°21'S 079°22'O
Pichincha	-	-	Tonificador	Corteza del fruto	40121 (QCA) L.P. Kvist, L. Holm-Nielsen	00°21'S 079°22'O

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras

Los usos medicinales reportados en herbarios internacionales de la especie *Grias peruviana* Miers muestran que los grupos étnicos: Shuar, Waorani y Tsáchila le dan un mayor uso como energizante (corteza del tallo) en un 18.75 %, y en un menor porcentaje en usos como: disentería (semilla) con 6.25 %, anticonceptivo (corteza) con 12.5 %, esterilidad (corteza) con 12.5 %, leishmaniasis cutánea (semilla) con 6.25 %, descongestionante (fruto) con 6.25 %, antidiarréico (hoja) con 6.25 %, antipirético (fruto) con 6.25 %, cólicos estomacales (semilla) con 6.25 %, antiparasitario (semilla) con 6.25 %, lavado rectal (semilla) con 6.25 % y como tonificador (corteza del fruto) con 6.25 %.

4.2. Usos medicinales reportados en herbarios nacionales.

4.2.1. *Grias neuberthii* Macbr y *Grias peruviana* Miers.

Las tablas 11 y 12 muestran los distintos usos medicinales atribuidos a ambas especies, aclarando que para su elaboración se tomaron en cuenta nada mas los vouchers de herbario que fueron identificados por el especialista mundial del género *Grias*, teniendo disponible como evidencia de esta identificación un anexo fotográfico (ver anexo 1).

Tabla 11. Usos medicinales de *Grias neuberthii* reportados en vouchers etnobotánicos de herbarios de Ecuador.

Provincia	Grupo étnico	Nombre vernáculo(s)	Uso	Estructura morfológica de la planta usada	Espécimen de Herbario y colector (es)	Coordenadas	Número de foto
Orellana	Huaorani	oñuwe	Para espinillas	Corteza	234 QCNE D. Naranjo y B Freire	Reserva REH Comunidad Bataburo a 20 minutos en auto desde el río Tiguino, 200 Km al sur del Coca por la vía Auca	1
Orellana	Huaorani	nempokawe	Pinchazo de avispa	Hoja	418 QCNE B. Freire y D. Naranjo	Reserva REH Comunidad Ñoneno 165 km al sur del Coca Río Shiripuno	2
Orellana	Huaorani	oñuwe	Para espinillas	Corteza	557 QCNE B. Freire y D. Naranjo	Reserva REH Comunidad Bataburo a 20 minutos en auto desde el río Tiguino, 200 Km al sur del Coca por la vía Auca	3
Sucumbíos	Cofan	Ttettechuchó	Hemético	Semilla	20818 QCNE MO C. E. Ceron	Sinangue 00°08'N 077°27'O	4 y 4a
Sucumbíos	Kichwa	piton	Dolores post parto, fiebre y vómitos	Corteza	313 QCNE, QAP M.A. Chinchero, D. Andi, G. Yasacama, J. Dagua y R. Huatauca	00°01'46"S 77°10'2.4"O	5
			Fruto asado comestible	Fruto			
Orellana	Huaorani	wenaka	Paludismo	Semilla	336 QCNE D. Naranjo y B. Freire	76°50'55"O 0°89'0.6"S	6

Napó	Kichwa	piton	Paludismo, hemético	Semilla	11963 QCNE, MO C. Ceron y R. Salazar	77°49'O 00°54'S	7
			Post parto, para limpiar el organismo	Corteza			
Sucumbíos	Cofan	T'cucho	Hemético	Semilla	147 QCNE, MO A. Alvarez, J. Shuira, C. Dahua y J. Umenda	00°05'N 77°26'O	8
Napó	Kichwa	piton muyu mallqui	Hemético para malaria	-	1159 QCNE E. Kohn	77°40'O 01°00'S	9
Napó	Kichwa	Piton, pitun	Malaria, magia para casería, Hemético	-	1002 QCNE E. Kohn	77°40'O 1°00'S	10
Napó	Kichwa	piton	Hemético para tratamiento post parto	Corteza	8683 QCNE, MO D. Neill y School for Field Studies	01°02'S 77°57'O	11
Napó	Kichwa	piton	Dolor de estómago, hemético para tratamiento post parto	Corteza interna	2828 QCNE, QCA H. Balslev y Santos Dea	00°28'S 76°43'O	12
Napó	Kichwa	piton	Antiparasitario, para tratamiento de leishmaniasis	Corteza	8044 QCNE, NY X. Cornejo y H. Grochowski	01°04'S 77°36'O	13

Fuente: Autoras.
Elaboración:

Autoras.

Los usos medicinales reportados en herbarios nacionales de la especie *Grias neuberthii* Macbr, muestran que los grupos étnicos: Huaorani, Kichwa y Cofán les dan un mayor uso como hemético (semilla) en un 26.32 %, y en un menor porcentaje en usos como: tratamiento de espinillas (corteza) con 10.53 %, pinchazo de avispas (hoja) con 5.26 %, tratamiento postparto (corteza) con 15.79 %, tratamiento de fiebre (corteza) con 5.26 %, tratamiento de vómito (corteza) con 5.26%, paludismo (semilla) con 10.53 %, malaria 5.26 %, tratamiendo de dolores estomacales (corteza) con 5.26%, antiparasitario (corteza) con 5.26 % y para curación de heridas (corteza) con 5.26%.

No se logró la identificación de los tres primeros vouchers de la tabla por parte del especialista internacional de *Grias* Mgtr. Xavier Cornejo.

La especie presenta usos medicinales que guardan relación con los antes mencionados, en estudios anteriores se reportan usos para esta especie que en nuestra investigación tambien han sido evidenciados tales como: purgativo, para detener la hemorragia uterina²⁷, purificante hemético, contra la malaria²⁸ y esterilizante²⁹, mientras que los usos como: tratamiento de dolores estomacales, antitumoral, tratamiento de espinillas y tratamiento postparto por los grupos étnicos Shuar, Huaorani, Kichwa y Cofán son reportados por primera vez.

Tabla 12. Usos medicinales de *Grias peruviana* reportados en vouchers etnobotánicos de herbarios de Ecuador.

Provincia	Grupo étnico	Nombre vernáculo(s)	Uso	Estructura morfológica de la planta usada	Espécimen de herbario y colector (es)	Coordenadas	Numero de foto
Zamora Chinchipe	Shuar	Aguacate de monte, apay	Cólicos estomacales	Semilla	8261 QCNE, MO W. Palacios G. Aymard y E. Freire	78°37'O 04°07'S	14
Pastaza	-	-	-	-	544 QCA S. Baez, A. Backevall, B Stahl y B Ollgard	-	15
Pichincha	Tsáchila	-	Energizante	Tallo	40121 QCA L.P. Kvist y L. Holm-	79°22'O 00°21'S	16

					Nielsen		
Morona Santiago	-	apay	Alimento, recaída del parto	Fruto	RBAE2000 (MO), QCNE H. Jimpikit	Los alrededores del Cerro Tiink cerca de Bomboiza	18
Zamora Chinchipe	-	Apay	Desparasitante	Semilla	23 (LOJA) Armijos J, Gomez P, Pauta Y y Quezada P,	738335E - 9587308 N	17
Zamora Chinchipe	Shuar	Apay	Recaída del parto	Fruto	78 (LOJA) Armijos J, Gomez P, Pauta Y y Quezada P,	733103E - 9581784N	20
Zamora Chinchipe	Shuar	Apai	Contra mordedura de serpiente	Fruto	184 (LOJA) Gerique A, Veintimilla D, Tapia E y Chuinda M	78°38'919"O; 04°19'272"S	19

Fuente: Autoras
Elaboración: Autoras

Los usos medicinales reportados en herbarios nacionales de la especie *Grias peruviana* Miers no registraron un uso mayoritario por parte de los grupos étnicos: Tsáchila y Shuar, ellos utilizan diferentes estructuras morfológicas: tratamiento de cólicos estomacales (semilla), energizante (tallos), desparasitante (semilla), tratamiento postparto (fruto) y contra mordedura de serpiente (fruto).

Esta especie presentó un uso medicinal similar a los mencionados anteriormente como lo es el facilitar el parto³¹, es por los usos como: energizante, anticonceptivo, esterilizante atribuidos por los grupos étnicos Tsáchila, Shuar y Waorani son reportados por primera vez.

4.3. Rendimiento de extractos obtenidos.

4.3.1. Extractos de *Grias neuberthii* Macbr.

En la tabla 13 se muestra los rendimientos de los extractos obtenidos así como sus principales características: disolvente, peso, y su valor de rendimiento.

Tabla 13. Rendimientos de los extractos obtenidos de las diferentes estructuras morfológicas de la especie *Grias neuberthii* Macbr.

<i>Grias neuberthii</i> Rendimiento de extractos				
Estructura morfológica usada	Disolvente	Código	Apariencia física	Rendimiento (%)
Fruto carnoso	Hexano	GNFH	Aceite amarillo naranja	19.60
	Acetato de etilo	GNFA	Aceite verde amarillento	2.70
	Metanol	GNFM	Pastoso café	4.44
Tallos	Hexano	GNTH	Jalea amarillento	0.54
	Acetato de etilo	GNTA	Sólido verdoso	0.23
	Metanol	GNTM	Sólido amarillento	9.39
Hojas	Hexano	GNHH	Jalea verdoso	3.41
	Acetato de etilo	GNHA	Sólido verdoso	1.42
	Metanol	GNHM	Sólido café	22.97
Epicarpo maduro	Hexano	GNEmH	Aceite amarillo naranja	32.24
	Acetato de etilo	GNEmA	Aceite verde amarillento	18.62
	Metanol	GNEmM	Pastoso café	4.77
Mesocarpo maduro	Hexano	GNMmH	Aceite amarillo naranja	34.20
	Acetato de etilo	GNMmA	Aceite verde amarillento	6.81
	Metanol	GNMmM	Pastoso café	1.56
Epicarpo	Hexano	GNEH	Aceite amarillo naranja	29.09
	Acetato de etilo	GNEA	Aceite verde amarillento	14.67
	Metanol	GNEM	Pastoso café	3.55
Embrión	Hexano	GNEBH	Aceite amarillo naranja	0.17
	Acetato de etilo	GNEBA	Aceite verde amarillento	1.37
	Metanol	GNEBM	Pastoso café	5.82
Mesocarpo	Hexano	GNMH	Aceite amarillo naranja	0.20
	Acetato de etilo	GNMA	Aceite verde amarillento	0.07
	Metanol	GNMM	Pastoso café	0.01

Fuente: Autoras.
Elaboración: Autoras

4.3.2. Extractos de *Grias peruviana* Miers.

La tabla 14 muestra la información que se utilizó para el cálculo de rendimiento de cada uno de los extractos obtenidos, así como como las características principales de dichos extractos.

Tabla 14. Rendimientos de los extractos obtenidos de las diferentes estructuras morfológicas de la especie *Grias peruviana* Miers.

<i>Grias peruviana</i>				
Rendimiento de extractos				
Estructura morfológica usada	Disolvente	Código	Apariencia física	Rendimiento %
Endocarpo	Hexano	GPEDH	Grumoso verdoso	3.84
	Acetato de etilo	GPEDA	Jalea verdoso	1.56
	Metanol	GPEDM	Sólido café	4.49
Mesocarpo	Hexano	GPMH	Grumoso verdoso	0.28
	Acetato de etilo	GPMA	Jalea verdoso	0.32
	Metanol	GPMM	Pastoso café	9.08
Epicarpo	Hexano	GPEH	Grumoso verdoso	0.50
	Acetato de etilo	GPEA	Jalea verdoso	0.79
	Metanol	GPEM	Sólido café	10.35
Embrión	Hexano	GPEBH	Grumoso verdoso	0.49
	Acetato de etilo	GPEBA	Jalea verdoso	0.81
	Metanol	GPEBM	Sólido café	22.96
Hojas viejas	Hexano	GPHVH	Pastoso verde amarillento	1.92
	Acetato de etilo	GPHVA	Sólido verde oscuro	1.87
	Metanol	GPHVM	Semisólido café amarillento	16.93
Hojas Jóvenes	Hexano	GPHJH	Pastoso verde amarillento	0.61
	Acetato de etilo	GPHJA	Sólido verde oscuro	1.25
	Metanol	GPHJM	Semisólido café amarillento	12.84
Tallos	Hexano	GPTH	Jalea amarillento	0.49
	Acetato de etilo	GPTA	Sólido grumoso amarillento	0.84
	Metanol	GPTM	Jalea amarillento	7.15
Hojas	Agua	GPHAG	Polvo grueso café amarillento	0.52
Tallos	Agua	GPTAG	Polvo café verdoso	0.18
Flores	Agua	GPFAG	Polvo fino café claro	0.49
Mesocarpo	Agua	GPMAG	Polvo café oscuro	0.13
Endocarpo & Embrión	Agua	GPEDEBAG	Polvo	0.38

Hojas	Etanol	GPHET	Polvo grueso café amarillento	6.97
Tallos	Etanol	GPTET	Polvo café verdoso	6.12
Flores	Etanol	GPFLET	Polvo fino café claro	4.44
Mesocarpo	Etanol	GPMET	Polvo café oscuro	6.80
Endocarpo & Embrión	Etanol	GPEDEBET	Polvo	3.35

Fuente: Autoras.

Elaboración: Autoras.

4.4. Unión de extractos obtenidos.

4.4.1. *Grías neuberthii*.

A continuación se muestran las placas de los extractos de hexano, de las diferentes estructuras morfológicas, eluidas en varias polaridades.

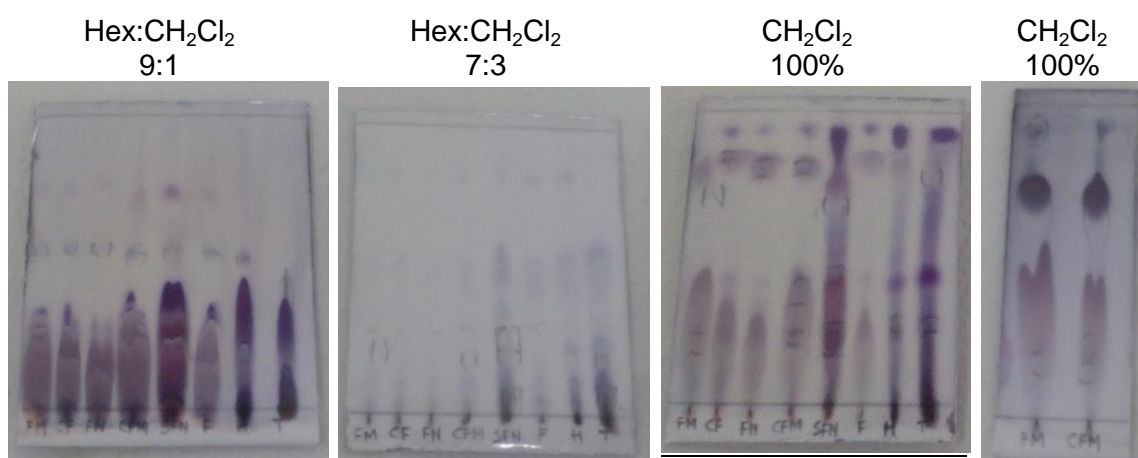


Figura 8. Cromatografía en capa fina de extractos hexánicos, obtenidos de la especie *Grías neuberthii*.

FM: mesocarpo maduro, **CF:** epicarpo, **FN:** mesocarpo, **CFM:** epicarpo maduro, **SFN:** embrión, **F:** fruto carnoso, **H:** hojas, **T:** tallos.

Fuente: Autoras.

Elaboración: Autoras

La figura 9 muestra las placas de los extractos de acetato de etilo, mismo que se corrieron en varias polaridades.

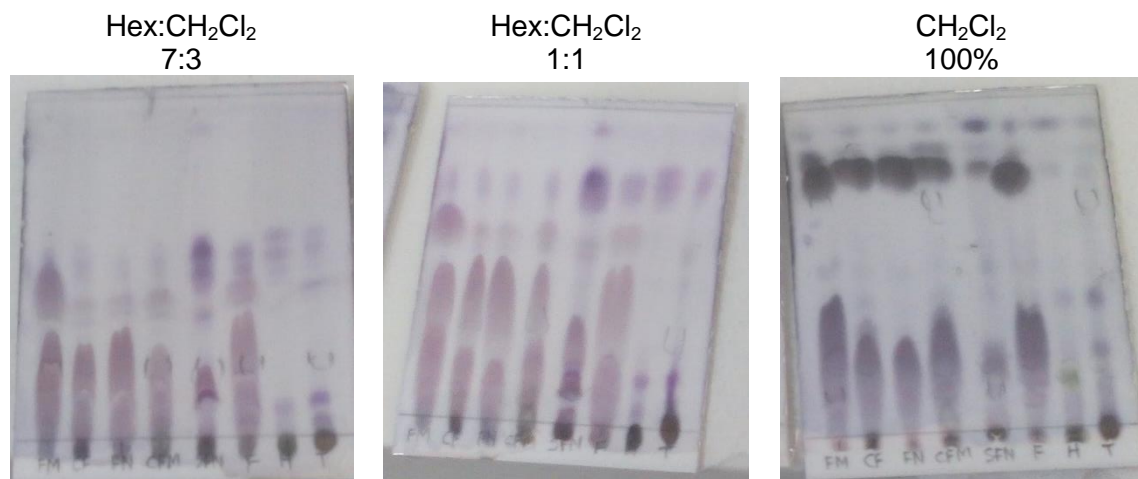


Figura 9. Cromatografía en capa fina de extractos de Acetato de etilo, obtenidos de la especie *Grias neuberthii*.

FM: mesocarpo maduro, **CF:** epicarpo, **FN:** mesocarpo, **CFM** epicarpo maduro, **SFN** embrión, **F** fruto carnoso, **H** hojas, **T** tallos.

Fuente: Autoras.

Elaboración: Autoras.

En la Figura 10 se aprecian la cromatografía en capa fina de los extractos metanólicos de las estructuras morfológicas, eluidas en varias polaridades.

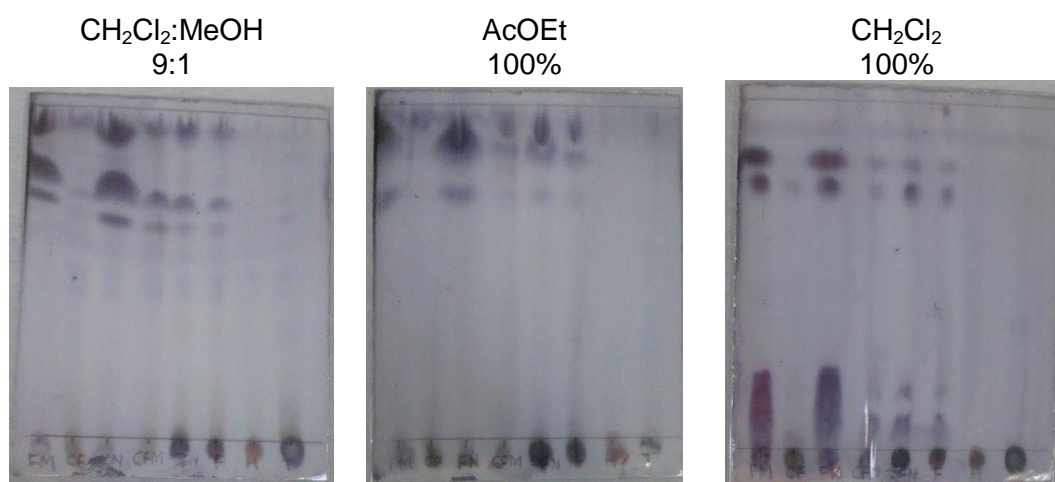


Figura 10. Cromatografía en capa fina de extractos metanólicos, obtenidos de la especie *Grias neuberthii*.

FM: mesocarpo maduro, **CF:** epicarpo, **FN:** mesocarpo, **CFM:** epicarpo maduro, **SFN:** embrión, **F:** fruto carnoso, **H:** hojas, **T:** tallos.

Fuente: Autoras.

Elaboración: Autoras

La tabla 15 muestra las uniones resultantes luego de comparar el perfil cromatográfico de los diferentes extractos, así como su peso, disolvente y código respectivo.

Tabla 15. Uniones de extractos obtenidos de la especie *Grias neuberthii* Macbr

<i>Grias neuberthii</i>			
Unión de extractos			
Estructura morfológica	Peso extracto (g)	Disolvente	Código de etiqueta
Unión 1 (Mesocarpo maduro, Epicarpo maduro, Epicarpo y Mesocarpo)	114.64	Hexano	GNU1H
Unión 2 (Epicarpo, Mesocarpo y Epicarpo maduro)	8.21	Acetato de etilo	GNU2A
Unión 3 (Mesocarpo y Mesocarpo maduro)	2.48	Metanol	GNU3M

Fuente: Autoras.

Elaboración: Autoras

Debido a que los extractos obtenidos presentaron similitud en su perfil cromatográfico, se obtuvieron 3 uniones en disolventes la primera que corresponde a hexano, la segunda a acetato de etilo y finalmente la tercera a metanol.

4.4.2. *Grias peruviana*.

En la Figura 11 se observa la cromatografía en capa fina de los extractos hexánicos obtenidos, corridos en diferentes polaridades.

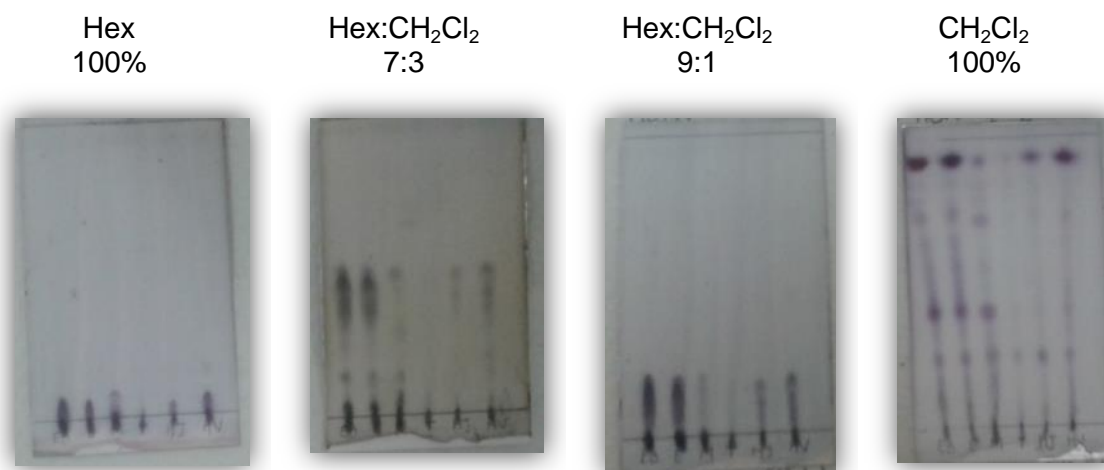


Figura 11. Cromatografía en capa fina de extractos hexánicos, obtenidos de la especie *Grias peruviana*.

EB: embrión, **E:** epicarpo, **M:** mesocarpo, **T:** tallos, **HJ:** hojas jóvenes, **HV:** hojas viejas

Fuente: Autoras.

Elaboración: Autoras

La Figura 12 muestra el perfil cromatográfico de los extractos obtenidos de acetato de etilo eluidos en diferentes polaridades.

Hex:AcOEt
7:3

Hex: CH₂Cl₂
7:3

CH₂Cl₂
100%



Figura 12. Cromatografía en capa fina de extractos de Acetato de etilo, obtenidos de la especie *Grias peruviana*.

M: mesocarpo, **T:** tallos, **E:** epicarpo, **EB:** embrión, **HJ:** hojas jóvenes, **HV:** hojas viejas
Fuente: Autoras.
Elaboración: Autoras

En la Figura 13, se puede apreciar las placas correspondientes a los extractos obtenidos de metanol, los cuales se eluyeron en varias polaridades.

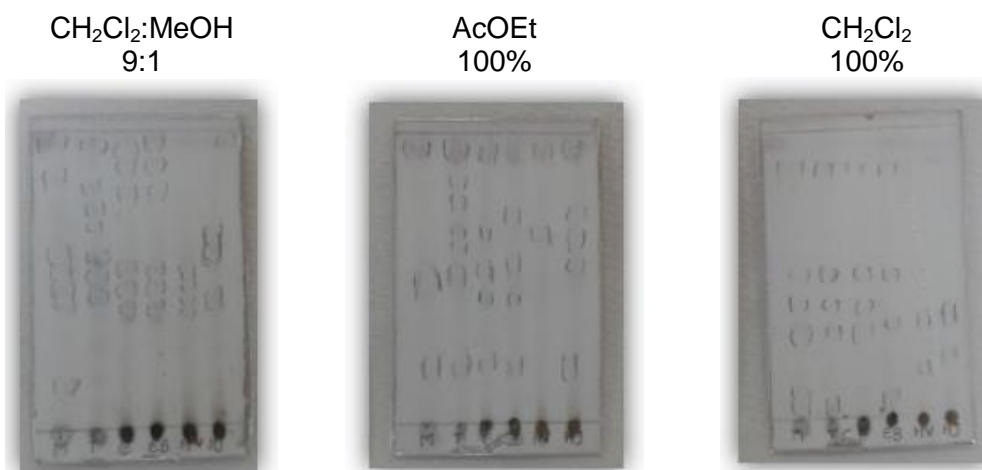


Figura 13 Cromatografía en capa fina de extractos metanólicos, obtenidos de la especie *Grias peruviana*.

M: mesocarpo, **T:** tallos, **E:** epicarpo, **EB:** embrión, **HJ:** hojas jóvenes, **HV:** hojas viejas
Fuente: Autoras.
Elaboración: Autoras

En la tabla 16 se muestra las uniones obtenidas luego de haber comparado el perfil cromatográfico de cada uno de los extractos resultantes, así como su peso y código respectivo.

Tabla 16. Uniones de extractos obtenidos de la especie *Grias peruviana* Miers.

<i>Grias peruviana</i>			
Unión de extractos			
Estructura morfológica	Peso extracto (g)	Disolvente	Código de etiqueta

Unión 1. (Mesocarpo, Endocarpo, Epicarpo y Embrión)	1.61	Hexano	GPU1H
Unión 2 (Hojas viejas & hojas jóvenes)	21.97	Hexano	GPU2H
Unión 3 (Hojas viejas & hojas jóvenes)	26.83	Acetato de etilo	GPU3A
Unión 4 (Embrión & Epicarpo)	0.37	Acetato de etilo	GPU4A
Unión 5 (Epicarpo & embrión)	28.79	Metanol	GPU5M

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras

Debido a que los extractos obtenidos presentaron similitud en su perfil cromatográfico, se obtuvieron 5 uniones, dos de hexano, dos de acetato de etilo y una de metanol.

4.5. Determinación de la concentración de ácidos grasos identificados por cromatografía de gases acoplado al detector de ionización de llama (FID).

La tabla 17 muestra las concentraciones de los diferentes ácidos grasos presentes en la especie *Grias neuberthii*.

Tabla 17 Concentración de ácidos grasos identificados en la especie *Grias neuberthii*.

Ácido graso	Concentración (ppm)	Concentración (%)
Ácido palmítico	3.95	10.475
Ácido esteárico	5.27	36.691
Ácido eláídico	31.65	23.064
Acido eurico	16.79	10.031
No identificados	-	19.739
TOTAL		100

Fuente: Autoras.

Elaboración: Autoras

Alva, et al. ⁵⁰ realizaron la caracterización de ácidos grasos del fruto de la especie *Grias neuberthii*, obteniendo un total de 12 ácidos grasos como: mirístico, pentanoico, palmítico, margárico, esteárico, araquírico, palmitoleico, oleico, gadoleico, erúrico, linoleico, linolénico, mientras que la identificación que se realizó en el presente trabajo muestra un total de 4 ácidos grasos, de los cuales los ácidos palmítico y esteárico fueron identificados en ambas investigaciones aunque en diferente concentración, esto podía deberse esto a que el contenido de los principios activos varía según la hora del día⁵¹ en el que se realizó la recolección de la especie, así mismo los contenidos de humedad y aceite en épocas equivalentes de madurez ⁵², además factores como el clima y la radiación solar que inciden notablemente en la biosíntesis de los principios activos, temperatura que incide notablemente en el desarrollo y metabolismo de las

plantas, el exceso y defecto de agua en el suelo pueden ser factores limitantes para el crecimiento y metabolismo de determinadas plantas medicinales.⁵³

La tabla 18 muestra las concentraciones de los diferentes ácidos grasos presentes en la especie *Grias peruviana*.

Tabla 18 Concentración de ácidos grasos identificados en la especie *Grias peruviana*.

Ácido graso	Concentración (ppm)	Concentración (%)
Ácido esteárico	597.23	1.255
Ácido elaídico	3259.41	3.454
Ácido oleico	707.57	1.478
Ácido linoleico	584674.91	57.691
No identificados	-	36.122
TOTAL		100

Fuente: Autoras.

Elaboración: Autoras

En la especie *Grias peruviana* se identificó el ácido linoleico como el mayoritario con una concentración del 57.691%, la presencia de este ácido podría justificar los usos etnomedicinales que se le atribuyen al fruto de la misma, como lo son para el tratamiento de acné y postparto, debido a las propiedades que presenta este ácido, como son el tener referencia particular al acné⁵⁴ y tratar la depresión tanto en embarazadas como en otro tipo de pacientes⁵⁵.

4.6. Tamizaje fitoquímico.

Se realizó un tamizaje fitoquímico a los diferentes extractos de las dos especies, para evaluar la presencia de compuestos químicos en los mismos. Los resultados de los ensayos realizados se muestran en la Tabla 19.

Tabla 19. Tamizaje fitoquímico de ambas especies

<i>Grias neuberthii</i>									
Muestra	Carbohidratos	Proteínas	Grasas	Alcaloides	Taninos	Flavonoides	Saponinas	Terpenos-Esteroides	Quinonas
Fruto Hexano (GNFH)	-	-	+	-	-	+	+	-	-
Fruto AcOEt (GNFA)	-	-	+	-	-	+	-	-	-
Fruto MeOH (GNFM)	+	+	+	+	+	+	+	+	++
Hojas MeOH (GNHM)	+	-	-	+	+	+	+	-	++
Tallos MeOH (GNTM)	+	+	-	-	+	-	+	-	-
<i>Grias peruviana</i>									
Muestra	Carbohidratos	Proteínas	Grasas	Alcaloides	Taninos	Flavonoides	Saponinas	Terpenos-Esteroides	Quinonas
Fruto MeOH (GPU5M)	+	-	+	-	+	-	+	-	-
Fruto EtOH (GPME)	-	-	+	+	-	+	-	+	-
Fruto H2O (GPMAG)	-	-	+	-	+	-	-	-	-
Hojas Hexano (GPHH)	-	-	+	-	-	+	-	-	-
Hojas AcOEt (GPHA)	-	-	-	-	+	-	+	+	-
Hojas MeOH (GPHJM)	+	-	-	-	+	-	+	+	++

Hojas EtOH (GPHE)	+	-	-	+	+	+	+	+	++
Hojas H2O (GPHAG)	+	-	-	-	+	+	-	-	-
Tallos Hexano (GPTH)	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Tallos AcOEt (GPTA)	-	-	+	+	+	-	+	-	-
Tallos MeOH (GPTM)	+	-	-	-	+	+	+	-	-
Tallos EtOH (GPTE)	+	-	-	-	+	-	+	-	-
Tallos H2O (GPTAG)	-	-	-	-	+	-	+	-	-
Flores EtOH (GPFIE)	+	-	-	-	+	-	+	-	++
Flores H2O (GPFIA)	+	-	-	+++	+	+	-	-	++

Fuente: Autoras.

Elaboración: Autoras

+: positivo razonable; ++: positivo fuerte, +++: positivo muy fuerte; - : ausencia.

4.7. Actividad biológica.

Posterior a la unión de extractos con perfil cromatográfico similar, se envió los mismos para evaluación de su actividad citotóxica en líneas celulares de cancer étnico.

La tabla 20 muestra el porcentaje de viabilidad de los extractos que resultaron con mayor actividad en las líneas celulares de cancer étnico en las cuales fueron probados.

Tabla 20 Porcentaje de viabilidad de los extractos más activos en líneas celulares de cancer étnico.

Viabilidad								
Código	Extracto	RKO	A-549	MCF-7	PC3	D-384	U-251	SW613-B3
GPU2H	Unión 2-hexano	23.5±4.23	80±2.01	88.3±7.87	110.4±9.91	103.5±6.78	92.2±3.62	106.8±1.03
GPHVM	Hojas viejas-metanol	57.6±8.86	84.5±8.3	126.5±6.08	43.1±9.86	54.3±9.49	30.8±6.28	85.2±7.91
GPHJM	Hojas jóvenes-metanol	57.6±8.95	79.3±6.88	88.7±4.18	53.5±8.08	33.9±3.35	35±1.78	109.8±9.20
GNFM	Fruto-metanol	72.2±6.38	93.1±5.69	48.7±3.75	70.1±8.20	80.2±7.88	124.5±0.70	105.0±8.67
GNTM	Tallos-metanol	15.3±3.61	13.7±8.61	15.8±7.60	4.9±3.70	9.7±3.45	25.5±8.78	10.4±2.24
GNHM	Hojas-metanol	91.5±4.95	89.6±5.74	126.8±5.86	44.7±3.43	45.6±4.81	95.7±6.24	114.6±3.68

Fuente: Tesis de licenciatura. Jimmy Samaniego

Elaboración: Tesis de licenciatura. Jimmy Samaniego

RKO y SW613-B3: colon rectal; **A-549:** pulmonar; **MCF-7:** mama; **PC3:** próstata; **D-384 y U-251:** astrocitoma cerebral.

En la tabla 21 se presentan los resultados obtenidos en cuanto a IC₅₀, concentración inhibitoria 50 de los extractos que presentaron mayor actividad antitumoral en siete líneas celulares de cancer humano en las que fueron probados.

Tabla 21 Concentración inhibitoria 50 (IC₅₀) de extractos con mayor actividad antitumoral de ambas especies de *Grias*.

Concentración inhibitoria 50 (IC ₅₀)								
Código	Extracto	RKO	A-549	MCF-7	PC3	D-384	U-251	SW613-B3
GPU2H	Unión 2-hexano	42.0±0.08	-	-	-	-	-	-
GPHVM	Hojas viejas-metanol	-	-	-	-	-	51.1±0.09	-
GPHJM	Hojas jóvenes-metanol	-	-	-	-	53.8±0.04	44.2±0.10	-

GNTM	Tallos-metanol	31.8±0.01	55.4±0.12	39.1±0.08	17.4±0.07	21.7±0.07	18.5±0.13	28.0±0.07
GNHM	Hojas-metanol	-	-	-	64.3±0.03	48.7±0.04	-	-

Fuente: Tesis de licenciatura. Jimmy Samaniego

Elaboración: Tesis de licenciatura. Jimmy Samaniego

RKO y SW613-B3: Cáncer de colon; **A-549:** cáncer pulmonar; **MCF-7:** cáncer de mama; **PC3:** cáncer de próstata; **D-384 y U-251:** astrocitoma cerebral.

El extracto correspondiente a tallos de metanol de la especie *Grias neuberthii*, presentó mayor actividad antitumoral en las 7 líneas celulares en las cuales se probó el mismo, así como también el extracto de fruto metanol presentó actividad antitumoral en la línea celular de cáncer de mama, lo que podríamos relacionarlo con la actividad antitumoral que le atribuyen los Kiwcha al embrión del fruto, de igual forma los extractos de hojas de metanol y la unión del fruto de la especie *Grias peruviana* presentaron actividad, pudiendo destacar este resultado como un nuevo aporte atribuible a esta especie.

4.8. Aislamiento de metabolitos secundarios.

4.8.1. Extracto de Acetato de etilo correspondiente a la unión 4 de embrión y epicarpo (GPU4A), de la especie *Grias peruviana* Miers.

Mediante cromatografía en columna abierta se obtuvieron 90 separaciones con un volumen de 8ml cada una, mismas que se unieron según su similitud de perfil cromatográfico, obteniéndose en total 31 fracciones (GPU4AF1-GPU4AF31), las cuales presentaron las características expuestas en la tabla 22.

Tabla 22. Fracciones obtenidas del extracto de Acetato de etilo correspondiente a la Unión 4, de la especie *Grias peruviana* Miers.

Fracción	Separación	Polaridad	Apariencia	Peso (mg)
GPU4AF1	1	Hex:AcOEt 9:1	-	0.10
GPU4AF2	2	Hex:AcOEt 9:1	Semisólido blanco	10
GPU4AF3	3	Hex:AcOEt 9:1	-	0.10
GPU4AF4	4	Hex:AcOEt 9:1	Sólido verdoso	29.30
GPU4AF5	5	Hex:AcOEt 9:1	Semisólido transparente	6.30
GPU4AF6	6-9	Hex:AcOEt 9:1	Semisólido verdoso	11.00
GPU4AF7	10	Hex:AcOEt 9:1	Semisólido verdoso	1.70
GPU4AF8	11-14	Hex:AcOEt 9:1	Cristales transparentes	6.60

GPU4AF9	15	Hex:AcOEt 8.5:1.5	Sólido blanquecino	2.10
GPU4AF10	16-17	Hex:AcOEt 8.5:1.5	Sólido verdoso	5.20
GPU4AF11	18	Hex:AcOEt 8.5:1.5	Sólido verdoso	2.60
GPU4AF12	19-20	Hex:AcOEt 8.5:1.5	Semisólido verde	5.10
GPU4AF13	21-23	Hex:AcOEt 8.5:1.5	Sólido verdoso	7.70
GPU4AF14	24-30	Hex:AcOEt 8:2	Semisólido verdoso	10.10
GPU4AF15	31-50	Hex:AcOEt 7.5:2.5	Sólido verdoso	15.20
GPU4AF16	51-57	Hex:AcOEt 7:3	Viscoso verdoso	7.30
GPU4AF17	58-60	Hex:AcOEt 6:4	Viscoso verdoso	7.30
GPU4AF18	61-63	Hex:AcOEt 1:1	Viscoso verdoso	4.90
GPU4AF19	64-66	Hex:AcOEt 1:1	Semisólido verdoso	6.70
GPU4AF20	67-68	Hex:AcOEt 1:1	Sólido verdoso	3.00
GPU4AF21	69-70	Hex:AcOEt 2.5:7.5	Semisólido verdoso	8.00
GPU4AF22	71-76	Hex 100%	Viscoso verdoso	14.20
GPU4AF23	77-80	Hex 100%	Semisólido verde amarillento	10.30
GPU4AF24	81	AcOEt:MeOH 7.5:2.5	Sólido transparente	2.70
GPU4AF25	82	AcOEt:MeOH 7.5:2.5	Viscoso verdoso	3.40
GPU4AF26	83-84	AcOEt:MeOH 7.5:2.5	Sólido verdoso	67.20
GPU4AF27	85-86	AcOEt:MeOH 7.5:2.5	Viscoso verdoso	7.20
GPU4AF28	87	AcOEt:MeOH 7.5:2.5	Semisólido verdoso	1.80
GPU4AF29	88	AcOEt:MeOH 7.5:2.5	Sólido verdoso	1.00
GPU4AF30	89	AcOEt:MeOH 7.5:2.5	Viscoso verdoso	1.30
GPU4AF31	90	AcOEt:MeOH 7.5:2.5	Sólido transparente	0.20

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras

4.8.2. Extracto metanólico de fruto, de la especie *Grias neuberthii* Macbr.

Mediante cromatografía en columna abierta se obtuvieron 50 separaciones con un volumen de 20ml cada una, mismas que se unieron según su similitud de perfil

cromatográfico, obteniéndose en total 29 fracciones (GNFMM1-GNFMM29), las cuales presentaron las siguientes características expuestas en la tabla 23.

Tabla 23. Fracciones obtenidas del extracto metanólico de fruto, de la especie *Grias neuberthii* Macbr.

Fracción	Separación	Polaridad	Apariencia	Peso (mg)
GNFMM1	1-4	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Sólido blanquecino	0.60
GNFMM2	5	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso café amarillento	264.90
GNFMM3	6	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Acuoso verdoso	248.90
GNFMM4	7	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Acuoso verdoso	198.00
GNFMM5	8	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido verdoso	149.00
GNFMM6	9	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido verdoso	107.70
GNFMM7	10-12	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso verdoso	190.70
GNFMM8	13	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso Café amarillento	23.50
GNFMM9	14	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso Café amarillento	16.80
GNFMM10	15-19	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso Café amarillento	143.60
GNFMM11	20-21	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso café	67.70
GNFMM12	22-24	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso café	88.70
GNFMM13	25	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Café viscoso	24.40
GNFMM14	26	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso Café amarillento	39.10
GNFMM15	27	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso café	47.30
GNFMM16	28	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso café	25.90
GNFMM17	29	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso café	60.60
GNFMM18	30-33	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido café	236.60
GNFMM19	34-36	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido café	1210.20
GNFMM20	37	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido café	167.70
GNFMM21	38	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido café	113.80
GNFMM22	39-40	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso café	113.10

GNFMF23	41	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Sólido café	98.10
GNFMF24	42	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Sólido café	26.40
GNFMF25	43-44	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido café	72.20
GNFMF26	45-46	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido café	1169.00
GNFMF27	47	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido café	248.80
GNFMF28	48-49	AcOEt:MeOH 1:1	Sólido café	491.70
GNFMF29	50	MeOH 100 %	Sólido café amarillento	97.40

Fuente: Autoras
Elaboración: Autoras

4.8.2.1. *Fracción 4 de la columna correspondiente al extracto metanólico de fruto, de la especie *Grias neuberthii* Macbr.*

Luego de haber realizado cromatografía en capa fina, de la fracción 4 (GNFMF4), se observó la presencia de 3 manchas que podían ser fácilmente separables, por lo que se decidió realizar microcolumna de la misma, habiendo recogido 61 separaciones de 8ml cada una, las cuales se unieron mediante la similitud en su perfil cromatográfico, logrando un total de 9 fracciones (GNFMF4F1-GNFMF4F9). En la tabla 24 se muestran las características de cada una de ellas.

Tabla 24. Fracciones obtenidas de la microcolumna correspondiente a la fracción 4, de la columna del extracto metanólico de fruto, de la especie *Grias neuberthii* Macbr.

Fracción	Separación	Polaridad	Apariencia	Peso (mg)
GNFMF4F1	1	Hex:AcOEt 3:7	Transparente	1.50
GNFMF4F2	2	Hex:AcOEt 3:7	Semisólido verdoso	148.00
GNFMF4F3	3	Hex:AcOEt 3:7	Semisólido verdoso	19.70
GNFMF4F4	4	Hex:AcOEt 3:7	Viscoso verdoso	7.10
GNFMF4F5	5-8	Hex:AcOEt 3:7	Sólido blanquecino	24.20
GNFMF4F6	9-18	Hex:AcOEt 3:7	Sólido blanquecino	12.00
GNFMF4F7	19-46	Hex:AcOEt 1:1	Sólido blanquecino	6.40
GNFMF4F8	47	AcOEt:MeOH 1:1	Sólido café	0.60
GNFMF4F9	48-61	MeOH 100 %	Sólido café	1.00

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras

4.8.2.1.1. *Fracción 2 de la microcolumna de la fracción 4 de la columna correspondiente al extracto metanólico de fruto, de la especie *Grias neuberthii* Macbr.*

Se realizó una microcolumna de la fracción 2 (GNF4F2) obtenida en la microcolumna de la fracción 4 de la columna correspondiente al extracto metanólico de fruto, esto debido a que se cromatografió en capa fina a la misma y se observó la presencia de 3 manchas fácilmente separables, obteniendo 87 separaciones de 8 ml cada una, aquellas que se unieron debido a la similitud en su perfil cromatográfico, logrando obtener 26 fracciones en total (GNF4F2F1 – GNF4F2F26). En la tabla 25 se exponen las características de cada una de las fracciones obtenidas.

Tabla 25. Fracciones obtenidas de la microcolumna de la fracción 2 (GNF4F2), obtenida de la fracción 4 de la columna de fruto metanol de la especie *Grias neuberthii* Macbr

Fracción	Separación	Polaridad	Apariencia	Peso (mg)
GNF4F2F1	1	Hex 100%	-	0
GNF4F2F2	2	Hex 100%	-	0
GNF4F2F3	3	Hex 100%	-	0.50
GNF4F2F4	4	Hex 100%	-	0
GNF4F2F5	5	Hex 100%	-	0.40
GNF4F2F6	6	Hex 100%	-	0.30
GNF4F2F7	7	Hex 100%	-	0.50
GNF4F2F8	8	Hex 100%	-	0.70
GNF4F2F9	9	Hex:AcOEt 9.5:0.5	-	0.70
GNF4F2F10	10	Hex:AcOEt 9.5:0.5	-	0
GNF4F2F11	11	Hex:AcOEt 9.5:0.5	-	0.11
GNF4F2F12	12-13	Hex:AcOEt 9.5:0.5	Verde viscoso	12.10
GNF4F2F13	14	Hex:AcOEt 9.5:0.5	Verde viscoso	9.40
GNF4F2F14	15	Hex:AcOEt 9.5:0.5	Semisólido blanquecino	5.90
GNF4F2F15	16-27	Hex:AcOEt 9.5:0.5	Líquido aceitoso blanquecino	52.60
GNF4F2F16	28-30	Hex:AcOEt	Líquido aceitoso	8.80

		9:1	blanquecino	
GNF4F2F17	31-33	Hex:AcOEt 9:1	Semisólido verde amarillento	10.90
GNF4F2F18	34-40	Hex:AcOEt 9:1	Semisólido verdoso	12.60
GNF4F2F19	41-42	Hex:AcOEt 8.5:1.5	Semisólido verdoso	2.90
GNF4F2F20	43-44	Hex:AcOEt 8.5:1.5	Semisólido transparente	3.70
GNF4F2F21	45	Hex:AcOEt 8.5:1.5	Semisólido transparente	0.10
GNF4F2F22	46	Hex:AcOEt 8.5:1.5	Semisólido transparente	1.80
GNF4F2F23	47-48	Hex:AcOEt 8.5:1.5	Semisólido transparente	0.50
GNF4F2F24	49-71	Hex:AcOEt 7:3	Semisólido verdoso (intenso)	4.30
GNF4F2F25	72-79	Hex:AcOEt 6:4	Semisólido verdoso	5.00
GNF4F2F26	80-87	AcOEt 100%	Viscoso verdoso	0

Fuente: Autoras
Elaboración: Autoras

4.8.2.1.2. *Fracción 3 de la microcolumna de la fracción 4 de la columna correspondiente al extracto metanólico de fruto, de la especie *Grias neuberthii* Macbr.*

Se realizó una microcolumna de la fracción 3 (GNF4F3) obtenida en la microcolumna de la fracción 4 de la columna correspondiente al extracto metanólico de fruto, esto debido a que se cromatografió en capa fina a la misma y se observó la presencia de 3 manchas fácilmente separables, logrando obtener 23 fracciones en total (GNF4F3F1-GNF4F3F23). En la tabla 26 se exponen las características de cada una de las fracciones obtenidas.

Tabla 26. Fracciones obtenidas de la microcolumna de la fracción 3 (GNF4F3), obtenida de la fracción 4 de la columna de fruto metanol de la especie *Grias neuberthii* Macbr.

Fracción	Separación	Polaridad	Apariencia	Peso (mg)
GNF4F3F1	1-32	Hex 100%	Sólido blanquecino	1.70
GNF4F3F2	33-35	Hex:AcOEt 8.5:1.5	Sólido blanquecino	1.40
GNF4F3F3	36	Hex:AcOEt 8.5:1.5	Semisólido blanquecino	0.10
GNF4F3F4	37-61	Hex:AcOEt 8.5:1.5	Sólido blanquecino	0
GNF4F3F5	62	Hex:AcOEt 8:2	Sólido transparente	0

GNFMM4F3F6	63	Hex:AcOEt 8:2	Sólido transparente	0.20
GNFMM4F3F7	64	Hex:AcOEt 8:2	Sólido transparente	0.20
GNFMM4F3F8	65	Hex:AcOEt 8:2	-	0
GNFMM4F3F9	66	Hex:AcOEt 8:2	-	0.30
GNFMM4F3F10	67	Hex:AcOEt 8:2	Líquido aceitoso verde amarillento	10.00
GNFMM4F3F11	68-70	Hex:AcOEt 6:4	Verde viscoso	2.60
GNFMM4F3F12	71	Hex:AcOEt 6:4	Semisólido transparente	1.40
GNFMM4F3F13	72-74	Hex:AcOEt 6:4	Sólido blanquecino	0.60
GNFMM4F3F14	75-76	Hex:AcOEt 1:1	Sólido blanquecino	0.70
GNFMM4F3F15	77-84	Hex:AcOEt 1:1	Sólido blanquecino	0.40
GNFMM4F3F16	85-88	Hex:AcOEt 4:6	Sólido blanquecino	0.20
GNFMM4F3F17	89-91	Hex:AcOEt 3:7	Sólido blanquecino	0.30
GNFMM4F3F18	92-98	Hex:AcOEt 3:7	-	0.40
GNFMM4F3F19	99	Hex:AcOEt 3:7	Sólido blanquecino	1.00
GNFMM4F3F20	100-108	Hex:AcOEt 2:8	-	0
GNFMM4F3F21	110-116	Hex:AcOEt 2:8	Sólido transparente	1.30
GNFMM4F3F22	117	Hex:AcOEt 2:8	Sólido transparente	0.20
GNFMM4F3F23	118-125	AcOEt:MeOH 1:1	Sólido amarillento	7.60

Fuente: Autoras
Elaboración: Autoras

4.8.2.2. *Fracción 5 de la columna correspondiente al extracto metanólico de fruto, de la especie *Grias neuberthii* Macbr.*

Luego de haber realizado cromatografía en capa fina, de la fracción 5 (GNFMM5), se observó la presencia de 4 manchas que podían ser fácilmente separables, por lo que se decidió realizar microlumna de la misma, habiendo recogido 107 separaciones de 8ml cada una, las cuales se unieron mediante la similitud en su perfil cromatográfico, logrando un total de 12 fracciones (GNFMM5F1-GNFMM5F12). En la tabla 27 se muestran las características de cada una de ellas.

Tabla 27. Fracciones obtenidas de la microcolumna correspondiente a la fracción 5, de la columna del extracto metanólico de fruto, de la especie *Grias neuberthii* Macbr.

Fracción	Separación	Polaridad	Apariencia	Peso (mg)
GNF5F1	1-3	Hex:AcOEt 8:2	Sólido amarillento	19.50
GNF5F2	4-8	Hex:AcOEt 8:2	Semisólido amarillento	27.70
GNF5F3	9-10	Hex:AcOEt 8:2	Semisólido verdoso	7.90
GNF5F4	11-57	Hex:AcOEt 8:2	Semisólido verdoso	7.20
GNF5F5	58-64	Hex:AcOEt 1:1	Viscoso verdoso	13.80
GNF5F6	65-86	Hex:AcOEt 1:1	Semisólido verdoso	32
GNF5F7	87	AcOEt 100 %	Semisólido blanquecino	1.10
GNF5F8	88	AcOEt:MeOH 1:1	Viscoso amarillento	7.4
GNF5F9	89	AcOEt:MeOH 1:1	Viscoso amarillento	5.90
GNF5F10	90	AcOEt:MeOH 1:1	Semisólido verdoso	3.30
GNF5F11	91-92	AcOEt:MeOH 1:1	Semisólido verdoso	3.40
GNF5F12	93-107	MeOH 100 %	Sólido verdoso	156.5

Fuente: Autoras
Elaboración: Autoras

4.8.3. Extracto metanólico de tallos, de la especie *Grias neuberthii* Macbr.

Mediante cromatografía en columna abierta se obtuvieron 150 separaciones con un volumen de 5ml cada una, mismas que se unieron según su similitud de perfil cromatográfico, obteniéndose en total 17 fracciones (GNTMF1-GNTMF28), las cuales presentaron las siguientes características expuestas en la tabla 28.

Tabla 28. Fracciones obtenidas del extracto metanólico de tallos, de la especie *Grias neuberthii* Macbr.

Fracción	Separación	Polaridad	Apariencia	Peso (mg)
GNTMF1	1	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Sólido blanquecino	0.20
GNTMF2	2-4	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Sólido amarillento	5.80
GNTMF3	5-6	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido verdoso	8.90
GNTMF4	7-13	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido amarillo verdoso	31.60

GNTMF5	14-20	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Sólido blanquecino amarillento	23.50
GNTMF6	21-24	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Sólido amarillento	9.10
GNTMF7	25-26	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido café amarillento	5.90
GNTMF8	27-30	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido café amarillento	21.40
GNTMF9	31-44	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso café	145.90
GNTMF10	45-50	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso café	39.50
GNTMF11	51-60	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido café	58.30
GNTMF12	61-70	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido café	65.40
GNTMF13	71-90	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso café	194.80
GNTMF14	91-98	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso amarillento	4.40
GNTMF15	99-114 y 116-120	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso amarillento	1858.20
GNTMF16	115	MeOH 100%	Viscoso café	713.40
GNTMF17	121-148	MeOH: H ₂ O 9:1	Viscoso café	154.40

Fuente: Autoras
Elaboración: Autoras

4.8.3.1. *Fracción 13 de la columna correspondiente al extracto metanólico de tallos, de la especie *Grias neuberthii* Macbr.*

Luego de haber realizado cromatografía en capa fina, de la fracción 13 (GNTMF13), se observó la presencia de 2 manchas que podían ser fácilmente separables, por lo que se decidió realizar microcolumna de la misma, habiendo recogido 49 separaciones de 5 ml cada una, las cuales se unieron mediante la similitud en su perfil cromatográfico, logrando un total de 4 fracciones (GNTMF13F1-GNTMF13F4). En la tabla 29 se muestran las características de cada una de ellas.

Tabla 29. Fracciones obtenidas de la microcolumna correspondiente a la fracción 13, de la columna del extracto de metanólico de tallos, de la especie *Grias neuberthii* Macbr.

Fracción	Separación	Polaridad	Apariencia	Peso (mg)
GNTMF13F1	1-9	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Viscoso café	87.1
GNTMF13F2	10-13	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Viscoso café	22.8
GNTMF13F3	14-26	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Viscoso café	44.3

GNTMF13F4	27-49	MeOH 100%	Viscoso café	14.7
-----------	-------	--------------	--------------	------

Fuente: Autoras
Elaboración: Autoras

4.8.3.1.1. *Fracción 1 de la microcolumna de la fracción 13 de la columna correspondiente al extracto metanólico de tallos, de la especie *Grias neuberthii* Macbr.*

Luego de haber realizado cromatografía en capa fina, de la fracción 1 (GNTMF13F1), se observó la presencia de 1 mancha fácil de purificar, por lo que se decidió realizar microcolumna de la misma, habiendo recogido 61 separaciones de 8 ml cada una, las cuales se unieron mediante la similitud en su perfil cromatográfico, logrando un total de 16 fracciones (GNTMF13F1F1-GNTMF13F1F16). En la tabla 30 se muestran las características de cada una de ellas.

Tabla 30 Fracciones obtenidas de la microcolumna de la fracción 1 (GNTMF13F1), obtenida de la fracción 13 de la columna de tallos metanol de la especie *Grias neuberthii* Macbr.

Fracción	Separación	Polaridad	Apariencia	Peso (mg)
GNTMF13F1F1	1	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Semisólido blanco amarillento	1.3
GNTMF13F1F2	2	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Viscoso amarillento	3.9
GNTMF13F1F3	3-6	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Viscoso café	46.8
GNTMF13F1F4	7	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Viscoso amarillento	6.6
GNTMF13F1F5	8	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Semisólido café	4.4
GNTMF13F1F6	9	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Viscoso amarillento	4
GNTMF13F1F7	10	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Semisólido café	3
GNTMF13F1F8	11	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Viscoso café	3
GNTMF13F1F9	12	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Semisólido blanquecino	2.6
GNTMF13F1F10	13	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Viscoso café	2.7
GNTMF13F1F11	14	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Viscoso café	2.3
GNTMF13F1F12	15	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Sólido café	1.3
GNTMF13F1F13	16	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Viscoso blanquecino	1.6
GNTMF13F1F14	17	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Viscoso verdoso	0.7

GNTMF13F1F15	18	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Semisólido blanquecino	0.4
GNTMF13F1F16	19-61	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.5:2:0.5	Semisólido café	2

Fuente: Autoras
Elaboración: Autoras

4.8.4. Extracto de metanol correspondiente a la unión 5 de epicarpo y embrión (GPU5M), de la especie *Grias peruviana* Miers.

Mediante cromatografía en columna abierta se obtuvieron 126 separaciones con un volumen de 8ml cada una, mismas que se unieron según su similitud de perfil cromatográfico, obteniéndose en total 8 fracciones (GPU5MF1-GPU5MF8), las cuales presentaron las características expuestas en la tabla 31.

Tabla 31. Fracciones obtenidas del extracto de metanol correspondiente a la Unión 5, de la especie *Grias peruviana* Miers.

Fracción	Separación	Polaridad	Apariencia	Peso (mg)
GPU5MF1	1-10	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso verdoso	7.60
GPU5MF2	11-30	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Viscoso verdoso	144.20
GPU5MF3	31-36	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Semisólido verdoso	74.50
GPU5MF4	37-40	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Sólido amarillento	23.40
GPU5MF5	41-46	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Sólido verde amarillento	108.80
GPU5MF6	47-60	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Sólido amarillento	136.20
GPU5MF7	61-124	AcOEt:MeOH:H ₂ O 7.7:1.3:1	Sólido amarillento	308.6
GPU5MF8	125 126	MeOH 100% MeOH:H ₂ O 9:1	Líquido café	6903.2

Fuente: Autoras
Elaboración: Autoras

4.8.4.1. Fracción 5 de la columna del extracto de metanol correspondiente a la unión 5, de la especie *Grias peruviana* Miers.

Luego de haber realizado cromatografía en capa fina, de la fracción 5 (GPU5MF5), se observó la presencia de 1 mancha concentrada en la base de la placa fácilmente separable, por lo que se decidió realizar microcolumna de la misma, habiendo recogido 84 separaciones de 5 ml cada una, las cuales se unieron mediante la similitud en su perfil cromatográfico, logrando un total de 14 fracciones (GPU5MF5F1-GPU5MF5F14). En la tabla 32 se muestran las características de cada una de ellas.

Tabla 32 Fracciones obtenidas de la microcolumna correspondiente a la fracción 5, de la columna del extracto de metanol de la unión 5, de la especie *Grias peruviana* Miers.

Fracción	Separación	Polaridad	Apariencia	Peso (mg)
GPU5MF5F1	1-2	Hex:AcOEt 3:7	Semisólido verdoso	0.9
GPU5MF5F2	3	Hex:AcOEt 3:7	Semisólido amarillento	1.9
GPU5MF5F3	4	Hex:AcOEt 3:7	Sólido amarillento	4.7
GPU5MF5F4	5	Hex:AcOEt 3:7	Viscoso amarillento	6.2
GPU5MF5F5	6-8	Hex:AcOEt 3:7	Viscoso amarillento	8.8
GPU5MF5F6	9-22	Hex:AcOEt 3:7	Viscoso amarillento	3.2
GPU5MF5F7	23-27	Hex:AcOEt 3:7	Semisólido amarillento	1.5
GPU5MF5F8	28-50	Hex:AcOEt 3:7	Viscoso amarillento	16.7
GPU5MF5F9	51-56	AcOEt 100 %	Semisólido blanquecino	5.1
GPU5MF5F10	57-70	AcOEt 100 %	Semisólido amarillento	14.3
GPU5MF5F11	71	AcOEt:MeOH 1:1	Sólido café	24.6
GPU5MF5F12	72	AcOEt:MeOH 1:1	Sólido amarillento	10
GPU5MF5F13	73	AcOEt:MeOH 1:1	Semisólido amarillento	2.8
GPU5MF5F14	74-84	AcOEt:MeOH 1:1	Semisólido amarillento	6.9

Fuente: Autoras
Elaboración: Autoras

4.8.4.1.1. *Fracción 11 de la microcolumna de la fracción 5 de la columna del extracto de metanol correspondiente a la unión 5, de la especie Grias peruviana Miers.*

Se realizó una microcolumna de la fracción 11 (GPU5MF5F11) obtenida en la microcolumna de la fracción 5 de la columna correspondiente a la unión 5 del extracto metanólico de fruto, esto debido a que se cromatografió en capa fina a la misma y se observó la presencia de 3 manchas fácilmente separables, logrando obtener 9 fracciones en total (GPU5MF5F11F1- GPU5MF5F11F9). En la tabla 33 se exponen las características de cada una de las fracciones obtenidas.

Tabla 33 Fracciones obtenidas de la microclumna de la fracción 11 (GPU5MF5F11), obtenida de la fracción 5 de la columna de fruto metanol de la especie *Grias peruviana* Miers.

Fracción	Separación	Polaridad	Apariencia	Peso (mg)
GPU5MF5F11F1	1-2	AcOEt 100 %	Semisólido amarillento blanquecino	1
GPU5MF5F11F2	3	AcOEt 100 %	Sólido blanquecino	2.6
GPU5MF5F11F3	4-6	AcOEt 100 %	Sólido blanquecino	7.4
GPU5MF5F11F4	7-8	AcOEt 100 %	Sólido blanquecino	1.1
GPU5MF5F11F5	9-11	AcOEt 100 %	Sólido blanquecino	0.9
GPU5MF5F11F6	12-25	AcOEt 100 %	Sólido blanquecino	3
GPU5MF5F11F7	26	AcOEt 100 %	Sólido blanquecino	0.5
GPU5MF5F11F8	27-53	AcOEt 100 %	Sólido blanquecino	5.6
GPU5MF5F11F9	54-75	AcOEt:MeOH 9:1	Sólido amarillento	30.2

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras

4.8.4.1.2. *Fracción 12 de la microclumna de la fracción 5 de la columna del extracto de metanol correspondiente a la unión 5, de la especie Grias peruviana Miers.*

Se realizó una microcolumna de la fracción 12 (GPU5MF5F12) obtenida en la microcolumna de la fracción 5 de la columna correspondiente a la unión 5 del extracto metanólico de fruto, esto debido a que se cromatógrafió en capa fina a la misma y se observó la presencia de 1 mancha fácil de purificar, logrando obtener 7 fracciones en total (GPU5MF5F12F1- GPU5MF5F12F7). En la tabla 34 se exponen las características de cada una de las fracciones obtenidas.

Tabla 34 Fracciones obtenidas de la microclumna de la fracción 12 (GPU5MF5F12), obtenida de la fracción 5 de la columna de fruto metanol de la especie *Grias peruviana* Miers.

Fracción	Separación	Polaridad	Apariencia	Peso (mg)
GPU5MF5F12F1	1-2	AcOEt 100 %	Semisólido amarillento	0.8
GPU5MF5F12F2	3	AcOEt:MeOH 9.5:0.5	Sólido blanquecino	0.8
GPU5MF5F12F3	4-5	AcOEt:MeOH 9.5:0.5	Sólido amarillento	5.3

GPU5MF5F12F4	6-8	AcOEt:MeOH 9.5:0.5	Sólido blanquecino	3.1
GPU5MF5F12F5	9-11	AcOEt:MeOH 9:1	Sólido verdoso	2.6
GPU5MF5F12F6	12-16	AcOEt:MeOH 8.5:1.5	Sólido amarillento	1.1
GPU5MF5F12F7	17-62	AcOEt:MeOH 8:2	Semisólido amarillento	12.9

Fuente: Autoras
Elaboración: Autoras

4.9. Caracterización e identificación de metabolitos secundarios.

4.9.1. Extracto metanólico de fruto de la especie *Grias neuberthii* Macbr.

4.9.1.1. Fracción GNFMF4F2F15.

Mediante la unión de las separaciones 16-27 se aisló la fracción identificada como GNFMF4F2F15, misma que fue eluída mediante cromatografía en columna abierta en una polaridad Hex:AcOEt 9.5:0.5, obteniendo 52.6 mg de líquido aceitoso blanquecino, con solubilidad en CH₂Cl₂, presentó un R_f de 0.51 eluída en Hex:AcOEt 7:3. Esta fracción se analizó en CG/EM. En la figura 14 se muestra la cromatografía en capa fina y apariencia física de la fracción antes expuesta.

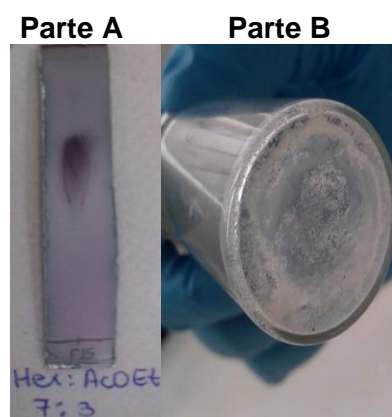


Figura 14. Fracción GNFMF4F2F15.
Parte A: Cromatografía en capa fina; Parte B: Apariencia física
Fuente: Autoras
Elaboración: Autoras.

Se realizó cromatografía en capa fina en varias polaridades, en las que se evidenció una sola mancha, siendo estas: Hex:AcOEt 9:1; Hex: AcOEt 8:2; Hex:AcOEt 7:3.

4.9.1.2. Fracción GNFMF4F2F16.

Por medio de la unión de las separaciones 28-30 se aisló la fracción identificada como GNFMF4F2F16, misma que fue eluída mediante cromatografía en columna abierta en una polaridad Hex:AcOEt 9:1, obteniendo 8.8 mg de líquido aceitoso blanquecino, con solubilidad en CH₂Cl₂, presentó un R_f de 0.67 eluída en Hex:AcOEt 6:4. Esta fracción se analizó en CG/EM. En la figura 15 se muestra la cromatografía en capa fina y apariencia física de la fracción antes expuesta.

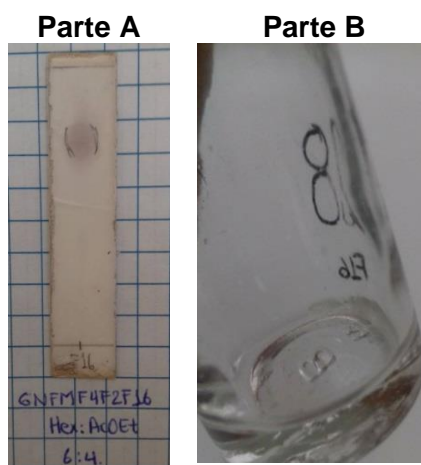


Figura 15. Fracción GNFMF4F2F16.

Parte A: Cromatografía en capa fina; **Parte B:** Apariencia física

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras

Se realizó cromatografía en capa fina en varias polaridades, en las que se evidenció una sola mancha, siendo estas: Hex:AcOEt 9:1; Hex: AcOEt 8:2; Hex:AcOEt 7:3; Hex:AcOEt 6:4.

4.9.1.3. Fracción GNFMF4F3F10.

Como consecuencia de la separación 67 se aisló la fracción identificada como GNFMF4F3F10, misma que fue eluída mediante cromatografía en columna abierta en una polaridad Hex:AcOEt 8:2, obteniendo 10 mg de líquido aceitoso verde amarillento, con solubilidad en CH_2Cl_2 , presentó un R_f de 0.33 eluída en Hex:AcOEt 1:1. Esta fracción se analizó en CG/EM. En la figura 16 se muestra la cromatografía en capa fina y apariencia física de la fracción antes expuesta.

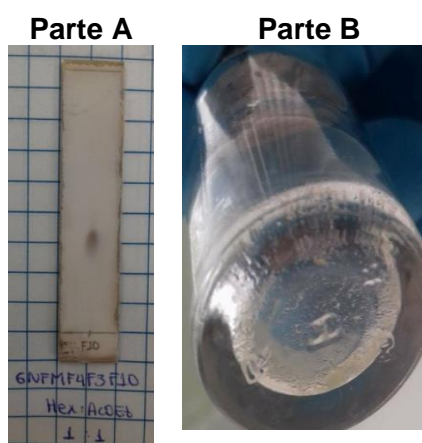


Figura 16. Fracción GNFMF4F3F10.

Parte A: Cromatografía en capa fina; **Parte B:** Apariencia física

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras

Se realizó cromatografía en capa fina en varias polaridades, en las que se evidenció una sola mancha, siendo estas: Hex:AcOEt 7:3; Hex:AcOEt 6:4; Hex:AcOEt 1:1.

4.9.2. Extracto de metanol-tallos de la especie *Grias neuberthii* Macbr.

4.9.2.1. Fracción GNTMF13F1F3

Por medio de la unión de las separaciones 3-6 se aisló la fracción identificada como GNTMF13F1F3, misma que fue eluída mediante cromatografía en columna abierta en una polaridad AcOEt:MeOH:H₂O 7.5:2:0.5, obteniendo 46.8mg con apariencia viscoso café con solubilidad en metanol, presentó un R_f de 0.54 eluída en AcOEt:MeOH:H₂O 6:3.5:0.5 Esta fracción se analizó en CG/EM. En la figura 17 se muestra la cromatografía en capa fina y apariencia física de la fracción antes expuesta.

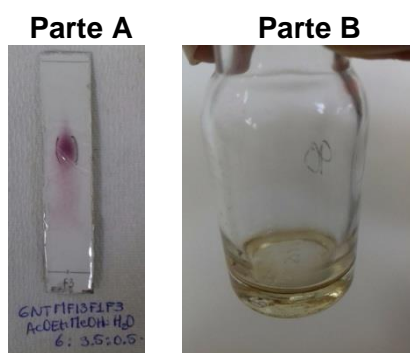


Figura 17 Fracción GNTMF13F1F3

Parte A: Cromatografía en capa fina; **Parte B:** Apariencia física

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras

Se realizó cromatografía en capa fina en varias polaridades, en las que se evidenció una sola mancha, siendo estas: AcOEt:MeOH:H₂O 7.5:2:0.5; AcOEt:MeOH:H₂O 7:2.5:0.5; AcOEt:MeOH:H₂O 6:3.5:0.5; MeOH:H₂O 9.5:0.5.

4.9.2.2. Fracción GNTMF13F3

Por medio de la unión de las separaciones 14-26 se aisló la fracción identificada como GNTMF13F3, misma que fue eluída mediante cromatografía en columna abierta en una polaridad AcOEt:MeOH:H₂O 7.5:2:0.5, obteniendo 44.3 mg con apariencia viscoso café y punto de fusión 112-115°C, soluble en metanol, misma que presentó un R_f de 0.6 eluída en AcOEt:MeOH:H₂O 7:2.5:0.5. Esta fracción se analizó en CG/EM. En la figura 18 se muestra la cromatografía en capa fina y apariencia física de la fracción antes expuesta.

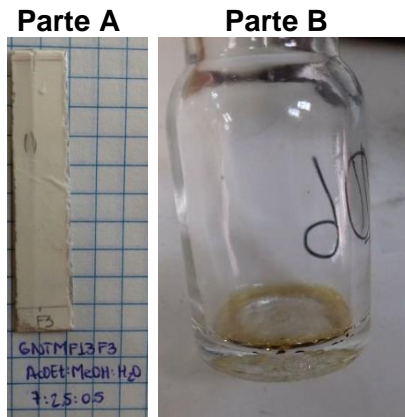


Figura 18 Fracción GNTMF13F3.

Parte A: Cromatografía en capa fina; **Parte B:** Apariencia física

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras

Se realizó cromatografía en capa fina en varias polaridades, en las que se evidenció una sola mancha, siendo estas: AcOEt:MeOH:H₂O 7.5:2:0.5; AcOEt:MeOH:H₂O 7:2.5:0.5; AcOEt:MeOH:H₂O 6.5:3:0.5.

4.9.3. *Extracto de acetato de etilo correspondiente a la unión 4 de embrión y epicarpo de la especie Grias peruviana Miers.*

4.9.3.1. *Fracción GPU4AF8.*

Producto de la unión de las separaciones 11-14 se aisló la fracción identificada como GPU4AF8, la misma que fue eluída mediante cromatografía en columna abierta en una polaridad Hex: AcOEt 9:1, obteniendo 6.6 mg de cristales transparentes, con punto de fusión 128-129°C, solubles en CH₂Cl₂, R_f de 0.53 eluída en Hex:AcOEt 8.5:1.5. Esta fracción se analizó en CG/EM, pero no se pudo identificar por esta técnica analítica ya que es un compuesto no volátil. En la figura 19 se muestra la cromatografía en capa fina y apariencia física de la fracción antes expuesta.

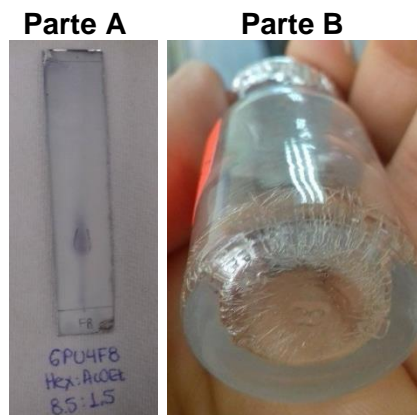


Figura 19. Fracción GPU4AF8.

Parte A: Cromatografía en capa fina; **Parte B:** Apariencia física

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras

Se realizó cromatografía en capa fina en varias polaridades, en las que se evidenció una sola mancha, siendo estas: Hex:AcOEt 8.5:1.5; Hex:AcOEt 7:3; Hex:AcOEt 6.5:3.5.

4.9.4. Extracto de metanol correspondiente a la unión 5 de embrión y epicarpo de la especie *Grias peruviana* Miers.

4.9.4.1. Fracción GPU5MF5F11F8.

Como consecuencia de la unión de las separaciones 27-53 se aisló la fracción identificada como GPU5MF5F11F8, misma que fue eluída mediante cromatografía en columna abierta en una polaridad AcOEt 100%, obteniendo 5.6 mg con una apariencia de sólido blanquecino y punto de fusión 230-232°C, con solubilidad en metanol, misma que presentó un R_f de 0.52, eluída en AcOEt:MeOH 9:1. Esta fracción se analizó en CG/EM. En la figura 20 se muestra la cromatografía en capa fina y apariencia física de la fracción antes expuesta.

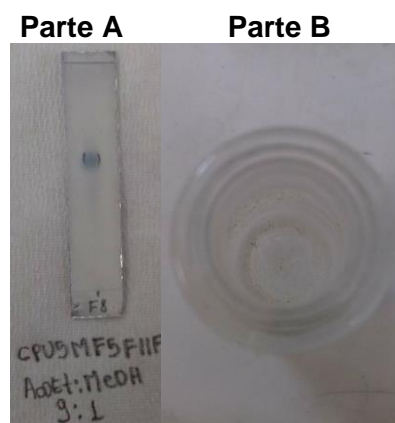


Figura 20 Fracción GPU5MF5F11F8

Parte A: Cromatografía en capa fina; **Parte B:** Apariencia física

Fuente: Autoras

Elaboración: Autoras

Se realizó cromatografía en capa fina en varias polaridades, en las que se evidenció una sola mancha, siendo estas: AcOEt:MeOH 9.5:0.5; AcOEt:MeOH 9:1; AcOEt:MeOH 8.5:1.5.

A las 7 fracciones aisladas se las logró identificar mediante sus características físicas y la técnica de CG/EM, posteriormente su análisis por RMN de ¹H y de ¹³C, será objeto de estudio de otro Trabajo de Fin de Titulación, ya que el equipo se encuentra fuera de servicio.

CONCLUSIONES

Se levantó un registro de usos medicinales reportados en herbarios internacionales, en el que destacan usos como hemético en un 28.57% atribuido por los grupos étnicos: Kichwa y Shuar y como energizante en un 18.75% por los grupos étnicos Shuar, Waorani y Tsáchila para las especies *Grias neuberthii* y *Grias peruviana*, respectivamente.

Mediante la revisión en herbarios nacionales se efectuó un registro de usos medicinales, en el que destaca como hemético en un 26.32% atribuido por los grupos étnicos: Huaorani, Kichwa y Cofán para la especie *Grias neuberthii*, mientras que para la especie *Grias peruviana* no se registró un uso mayoritario por parte de los grupos étnicos: Tsáchila y Shuar, pero se reportaron en igual proporción usos como: colicos estomacales, energizante, tratamiento postparto, desparasitante y contra mordeduras de serpiente.

De los extractos que se logró obtener de ambas especies, el que presentó mayor rendimiento para la especie *Grias neuberthii* fue el de hexánico de mesocarpo maduro (GNMmH) con un 34,2%, y para la especie *Grias peruviana* fue el metanólico del embrión (GPEBM), con un 22.96%, en comparación con los extractos de las diferentes estructuras morfológicas cuyo valor de rendimiento fue menor.

A partir del extracto metanólico de fruto de la especie *Grias neuberthii* (GNFM), se obtuvieron 3 fracciones GNFMF4F2F15, GNFMF5F2F16 y GNFMF4F3F10, así mismo del extracto metanólico de tallos (GNTM) se obtuvieron 2 fracciones GNTMF13F1F3 y GNTMF13F3, las cuales aparentemente podrían ser metabolitos secundarios puros.

A partir del extracto de acetato de etilo de embrión y epicarpo correspondiente a la unión 4 (GPU4A), se obtuvo la fracción GPU4AF8, de igual forma del extracto metanólico de embrión y epicarpo correspondiente a la unión 5 (GPU5M), se obtuvo la fracción GPU5MF5F11F8, las cuales probablemente sean metabolitos secundarios puros.

RECOMENDACIONES

Añadir estudios etnomedicinales dentro de los estudios fitoquímicos a investigaciones posteriores, para tener una mejor orientación de la investigación a realizarse, pudiendo de esta manera aprovechar y preservar el conocimiento de nuestros ancestros.

Ampliar las investigaciones referentes al aislamiento de metabolitos secundarios, probando nuevas actividades biológicas, ya que el estudio etnomedicinal nos provee la información preliminar hacia la cual se puede enfocar dicha investigación.

Continuar con la caracterización de los 7 compuestos que al parecer están puros según cromatografía en capa fina, estos compuestos están por ser caracterizados mediante RMN (el equipo está fuera de servicio).

BIBLIOGRAFÍA

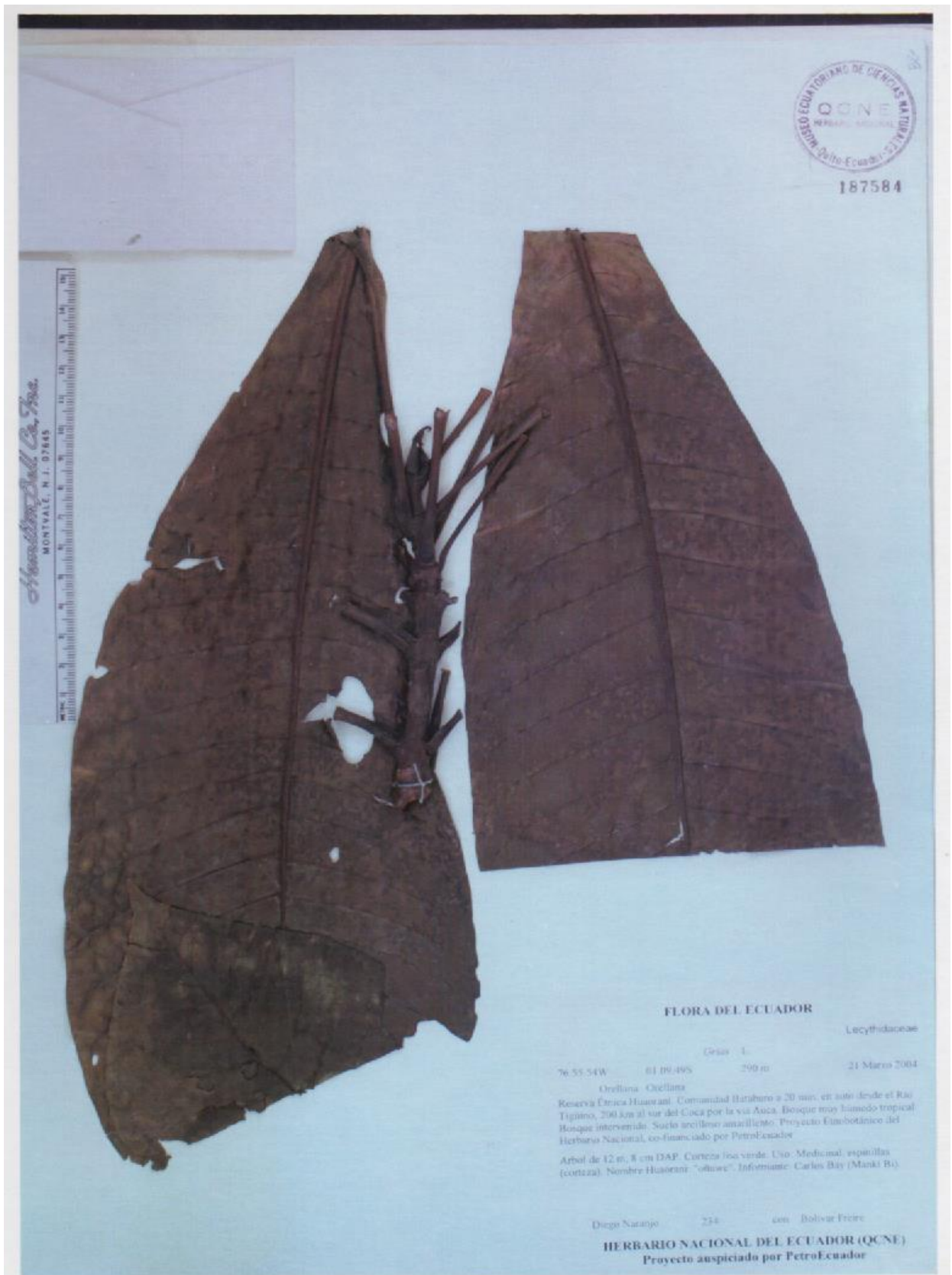
1. SHARMA, B. K. Ethnomedicine : Study of Traditional Medicines. <http://www.biotecharticles.com/Healthcare-Article/Ethnomedicine-Study-of-Traditional-Medicines-906.html> (accessed diciembre 26).
2. ethnomedicine Segen's Medical Dictionary. <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/ethnomedicine> (accessed diciembre 26).
3. Gurib-Fakim, A., Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine* **2006**, 27 (1), 1-93.
4. Bodeker, G., Traditional medical knowledge and twenty-first century healthcare: The interface between indigenous and modern science. *Local science vs. global science: Approaches to indigenous knowledge in international development* **2007**, 23-39.
5. SciDevNet Medicina tradicional y moderna: Hechos y cifras. <http://www.scidev.net/america-latina/enfermedades/especial/medicina-tradicional-y-moderna-hechos-y-cifras.html> (accessed diciembre 26).
6. Barquero, A. A., PLANTAS SANADORAS: PASADO, PRESENTE Y FUTURO. *Revista Química Viva* **2007**, 6 (2).
7. Kumar, P., Valuation of medicinal plants for pharmaceutical uses. *CURRENT SCIENCE-BANGALORE*- **2004**, 86 (7), 930-937.
8. Qureshi, S. J.; Khan, M. A., Ethnobotanical study of Kahuta from Rawalpindi district Pakistan. *OnLine Journal of Biological Sciences* **2001**, 1 (1), 27-30.
9. Macera Carnero, M. M., Etnobotánica medicinal en la comunidad nativa asháninca de Churingaveni, Chanchamayo-Perú. **2012**.
10. Escalona, J.; Carrasco, R.; Padrón, J., Introducción al diseño de Fármacos. 2005.
11. Farnsworth, N. R.; Akerele, O.; Bingel, A. S.; Soejarto, D. D.; Guo, Z., Medicinal plants in therapy. *Bulletin of the world health organization* **1985**, 63 (6), 965.
12. Olivaro, C., Estudio de Metabolitos Antibacterianos de la Flora Medicinal Nativa de Uruguay.
13. García Quiala, M.; Díaz Pita, G., Efectividad de la fitoterapia en pacientes con asma bronquial. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río* **2012**, 16 (1), 118-131.
14. Vedavathy, S., Scope and importance of traditional medicine. *Indian J Traditional Knowledge* **2003**, 2 (3).
15. Ramírez, G. Z., Conservation of the biological and cultural diversity of the Colombian Amazon Piedmont: Dr. Schultes' legacy. **2005**.
16. Salgado, E. L. R., Contribución de la etnomedicina-plantas medicinales, a la salud de la población en la amazonía.
17. Mathez-Stiefel, A. C. S.-L. Ethnomedicine in the Contemporary World. <http://www.ethnobiology.net/editorial-ethnomedicine-contemporary-world/> (accessed diciembre 27).
18. salud, A. m. d. l. Medicina tradicional. <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21477es/s21477es.pdf> (accessed diciembre 27).
19. Mena Torres, V. A., Producción radiofónica sobre medicina ancestral para radio mensaje (10 radio-dramas). **2015**.
20. Naranjo, P., Universidad Andina Simón Bolívar, Ecuador. *Etnomedicina y etnobotánica: avances en la investigación* **2010**, 61.
21. Moya, R., *Ecuador: cultura, conflicto y utopía*. Cedime: 1987.
22. Naranjo, P., *Etnomedicina y etnobotánica: avances en la investigación*. Universidad Andina Simón Bolívar: 2010.

23. list, T. p. Grias. <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Lecythidaceae/Grias/> (accessed diciembre 28).
24. Naturalista Género Grias. <http://www.naturalista.mx/taxa/185502-Grias> (accessed diciembre 28).
25. USDSG, Distribution map of *Grias neuberthii* in Ecuador In *Google earth*, Data SIO, NOAA, U.S, NGA, GEBCO: 2013.
26. USDSG, Distribution map of *Grias peruviana* in Ecuador. In *Google earth* Data SIO, NOAA, U.S, NGA, GEBCO: 2013.
27. Acid, L., Extracción y caracterización de ácidos grasos de la especie *Grias neuberthii* Macht (Sachamango). *Alimentaria* **2002**, 2 (1), 103-106.
28. Roumy, V.; Garcia-Pizango, G.; Gutierrez-Choquevilca, A.-L.; Ruiz, L.; Jullian, V.; Winterton, P.; Fabre, N.; Moulis, C.; Valentin, A., Amazonian plants from Peru used by Quechua and Mestizo to treat malaria with evaluation of their activity. *Journal of ethnopharmacology* **2007**, 112 (3), 482-489.
29. Lescure, J.; Balslev, H.; Alarcón, R., Plantas utiles de la Amazonia Ecuatoriana (407 pp.).-ORSTOM, PUCE, and PRONAREG, Quito. *Nordic Botanical Research* **1987**, 77.
30. Placencia., B. P. J. J. M. G. A. G. E. B. M. http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/fofia/vol11_n1/plantas%20empleadas.htm (accessed julio 02).
31. Odonne, G.; Valadeau, C.; Alban-Castillo, J.; Stien, D.; Sauvain, M.; Bourdy, G., Medical ethnobotany of the Chayahuita of the Paranaपुरa basin (Peruvian Amazon). *Journal of ethnopharmacology* **2013**, 146 (1), 127-153.
32. Arnason, J. T.; Mata, R.; Romeo, J. T., *Phytochemistry of medicinal plants*. Springer Science & Business Media: 2013; Vol. 29.
33. Croteau, R.; Kutchan, T. M.; Lewis, N. G., Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and molecular biology of plants* **2000**, 24, 1250-1319.
34. farmacognosia, p. m. Fitoquímica. <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/introduccion-a-la-farmacognosia/fitoquimica/> (accessed diciembre 29).
35. Bigler, O. Nitrogen containing volatile organic compounds. uniwien, 2012.
36. Knudsen, J. T.; Mori, S. A., Floral scents and pollination in neotropical Lecythidaceae. *Biotropica* **1996**, 42-60.
37. Roy A. Keller, J. C. G. Chromatography. <https://www.britannica.com/science/chromatography> (accessed diciembre 29).
38. Education, V. A. L. U. Separation of Compounds Using Column Chromatography <http://vlab.amrita.edu/?sub=2&brch=191&sim=341&cnt=1> (accessed diciembre 30).
39. chemguide COLUMN CHROMATOGRAPHY. <http://www.chemguide.co.uk/analysis/chromatography/column.html> (accessed diciembre 30).
40. Biochemistry, C. Developing a Plate. <http://www.chem.ucla.edu/~bacher/General/30BL/tips/TLC1.html> (accessed diciembre 30).
41. LABORATORIES, E. Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS). <http://www.eag.com/gas-chromatography-mass-spectrometry-gc-ms/> (accessed diciembre 30).
42. Facility, L. S. M. S. Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC/MS). <http://www.bris.ac.uk/nerclsmf/techniques/gcms.html> (accessed diciembre 30).
43. Zaragoza, U. d. Punto de fusión. http://ocw.unizar.es/ocw/ciencias-experimentales/tecnicas-basicas-de-laboratorio-quimico/teoria/Puntofusion_teoría.pdf (accessed diciembre 31).
44. Orgánica, G. d. S. Cristalización <http://www.sinorg.uji.es/Docencia/FUNDQO/TEMA11FQO.pdf> (accessed diciembre 31).

45. Sevilla, U. d. Resonancia Magnética Nuclear. <https://investigacion.us.es/scisi/sgj/servicios/rmn> (accessed diciembre 2016).
46. Biochemistry, C. PROTON NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY (H-NMR). http://www.chem.ucla.edu/~harding/notes/notes_14C_nmr02.pdf (accessed diciembre 31).
47. Belmonte, A. E. Resonancia Magnética Nuclear Aplicada al Estado Sólido. <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Dialnet-ResonanciaMagneticaNuclearAplicadaAlEstadoSolido-885961.pdf> (accessed diciembre 31).
48. Cadme, J.; Calva, J. Desarrollo y validación de un método para determinación de ácidos grasos cis y trans en margarina y aceite vegetal. Universidad Técnica Particular de Loja, Loja-Ecuador, 2007.
49. Mandal, S. C.; Mandal, V.; Das, A. K., *Essentials of botanical extraction: principles and applications*. Academic Press: 2015.
50. Alva, A.; Vásquez, O.; Cuniberti, R.; Castillo, A. d.; Guerra, W., Extracción y caracterización de ácidos grasos de la especie *Grias neuberthii* macht (sachamango). *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria* **2002**, 2 (1), 103-106.
51. Sharapin, N., *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Convenio Andrés Bello: 2000; Vol. 78.
52. Olaeta, J.; Undurraga, P.; Schwartz, M., Determinación de la evolución y caracterización de los aceites en paltas (*Persea americana* Mill.) cvs. Fuerte y Hass cultivados en Chile. *Revista Chapingo Serie Horticultura* **1999**, 5, 117-122.
53. Palacios, M. P. Introducción a la Farmacognosia. <http://farmacognosia-farmacauladech.blogspot.com/> (accessed 11 de agosto del 2017).
54. Benhoogste Tratar el acné con ácidos grasos esenciales <https://ecompostela.com/tratar-el-acne-con-acidos-grasos-esenciales/> (accessed 11 de agosto del 2017).
55. Tapia, A., Ácidos grasos omega-3 para la prevención y tratamiento de las depresiones en el embarazo y post parto. *Revista chilena de obstetricia y ginecología* **2004**, 69 (5), 399-403.

ANEXOS

Anexo 1. Vouchers etnobotánicos de Ecuador





189325



FLORA DEL ECUADOR

Lecythidaceae

Grasa 1.

76 53.11W 01.02.33S 245 m 26 Enero 2004

Orellana Orellana

Reserva Étnica Huorani. Comunidad Nomeno a 155 km al sur del Coca. Río Shiripuno, 2 horas en canoa aguas abajo. Bosque muy húmedo tropical. Bosque intervenido. Suelo arcilloso amarillento. Proyecto Etnobotánico del Herbario Nacional, co-financiado por PetroEcuador

Arbusto de 0.4 m de alto. Uso: Medicinal, pinchazo de abrupa (hoja). Nombre Huorani: "nempokawe". Informante: Carlos Iruzunga (Tiro Apa).

Bolivar Freyre 418 con Diego Naranjo

HERBARIO NACIONAL DEL ECUADOR (QCNE)
Proyecto auspiciado por PetroEcuador



189212



FLORA DEL ECUADOR

Lecythidaceae

Griaz L.
76.55.54W 01.09.49S 290 m 21 Marzo 2004

Orellana Orellana
Reserva Etnica Huorani. Comunidad Bataburo a 20 min. en auto desde el Rio Tigilina, 200 km al sur del Coca por la via Aora. Bosque muy humedo tropical. Bosque intervenido. Suelo arcilloso amarillento. Proyecto Etnobotanico del Herbario Nacional, co-financiado por PetroEcuador

Arbol de 12 m; 8 cm DAP. Corteza verde, lisa. Uso: espinillas (corteza).
Nombre Huorani: "otluve". Informante: Carlos Bay (Manki Bi)

Bolivar Freire 557 con Diego Naranjo

HERBARIO NACIONAL DEL ECUADOR (QCNE)
Proyecto auspiciado por PetroEcuador



0214262



Ecuador

LECYTHIDACEAE

Grias neuberthii J.F. Macbr. 1
X. CORUZO, 2016.
det. C. Cerán (unp.), 1993

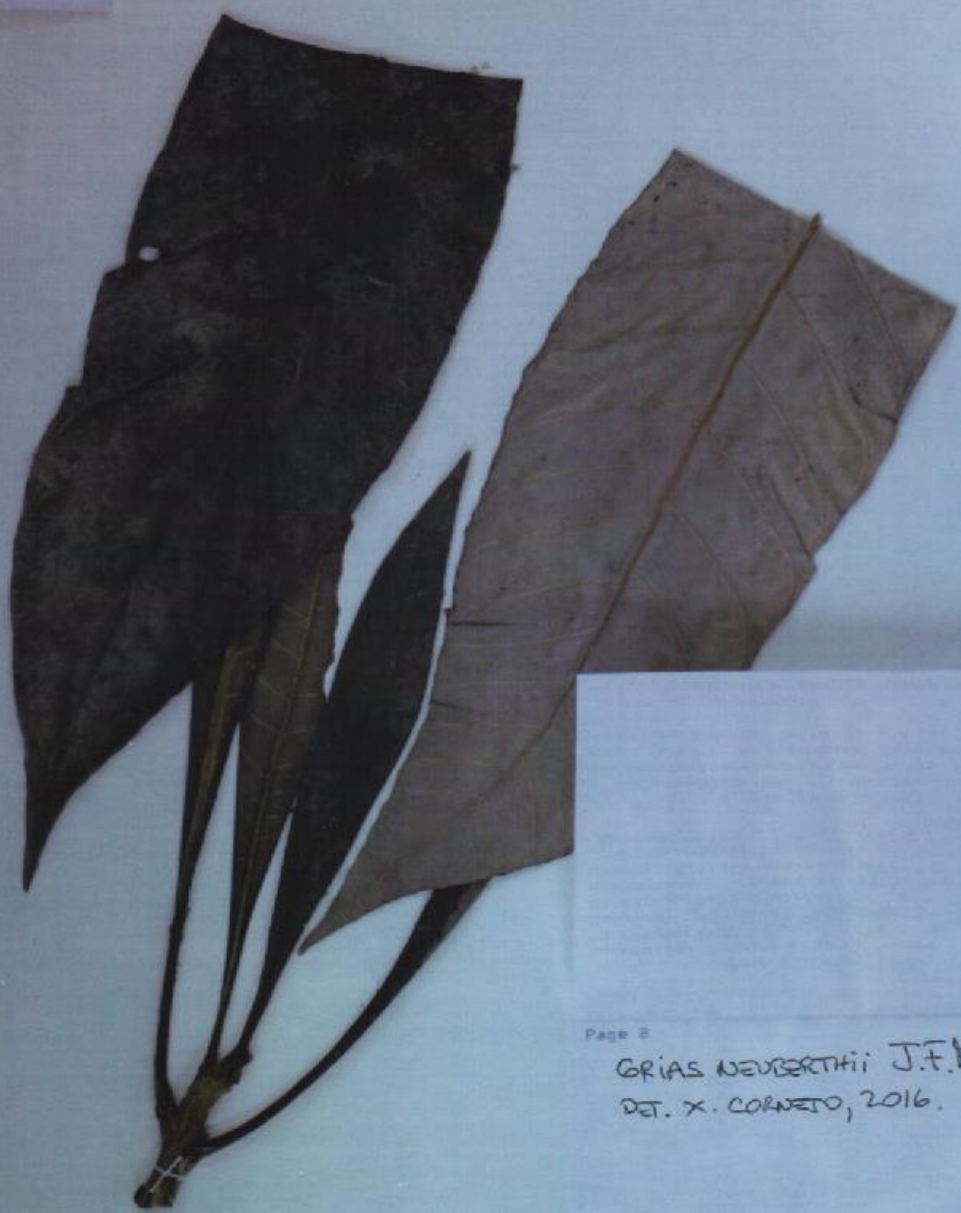
Sucumbios: Gonzalo Pizarro
Parroquia Pto. Libre (Sn. Pedro de los
Cofanes). Comunidad Cofán de
Sinangue. Bosque húmedo
premontano. Consuelo Montalvo, Joe
Usenda, Calisto Usenda y Jorge
Crisillo. Parcel Permanente.
00°08'N 077°27'W 700 - 800 m

Arbol de 12 m. Flores caulinares
crema-amarillo. PP.1-7. Nombre
Cofán: Ttettecchuchá. Los frutos
maduros se cocen y se comen. También
como las quantas (chanango) y las

Carlos E. Cerán 20818
MISSOURI BOTANICAL GARDEN HERBARIUM (MO)
Carlos E. Cerán 20818
MISSOURI BOTANICAL GARDEN HERBARIUM (MO)



0214262



Page 2

Grias neubertii J.F. Macell
DET. X. CORNEJO, 2016.

ardillas (Tutuye.) Las pepas hervidas
se debe estar en agua para limpiar el
estomago mediante vomito.
04 December 1992

Carlos E. Cerón 20818
MISSOURI BOTANICAL GARDEN HERBARIUM (MO)



210843



ECUADOR

LECYTHIDACEAE

Grias neuberthii J.F. Macbr.

Det. X. CORNEJO, 2016.

SUCUMBIOS

Cantón Dorado de Caacates, parroquia de Lumbaquí, comunidad Kichwa Shayari. Bosque siempreverde de tierras bajas. Bosque primario en colina. Sendero Etnobotánico.

00° 01' 46,0" S 77° 10' 02,4" W

368 msnm

Árbol de 20 m, 24 cm de DAP. Corteza externa pardo desprendible. Fruto verde claro, flor caliz verde ovario café

Nombre Kichwa: Pitoti

Uso: Fruto alimento de aves, guiso y humano. La corteza en decocción sirve para tratar dolores post parto, fiebres y cólicos. El fruto se come asado

Miguel-Angel Chácherero, Domingo Andí, Geovani Yasacama,

Juan Daguas & Roberto Huatacaca

313 18-29/12/2004

ESCUELA DE BIOLOGÍA, UNIV. CENTRAL DEL ECUADOR

HERBARIO NACIONAL DEL ECUADOR (QCAE)
 Proyecto auspiciado por PetroEcuador
 Diego Xaranga 336 con Bolívar Frías
 Nombre Huasteco: "arriba"; Informante: Osvaldo Vargas
 Arbol de 10 m; 16 cm DAP; Fruto café; Usos: Medicina; paludismo (centra)
 co-financiado por PetroEcuador.
 Sitio actual: en el Coca; Proyecto Financiamiento del Herbario Nacional.
 120 km al sur del Coca; Bosque muy húmedo tropical; Bosque invencido.
 Reserva Etnica Huasteco; Comunidad Takagore; a 16 km al sur de la vía Aca.
 Cuelma, Cuelma X. Cornejo, 2016
 76.50.55W 00.89.00S 375 m 30 Marzo 2004
 Gran suberfite LF Mack
 Leguminosae

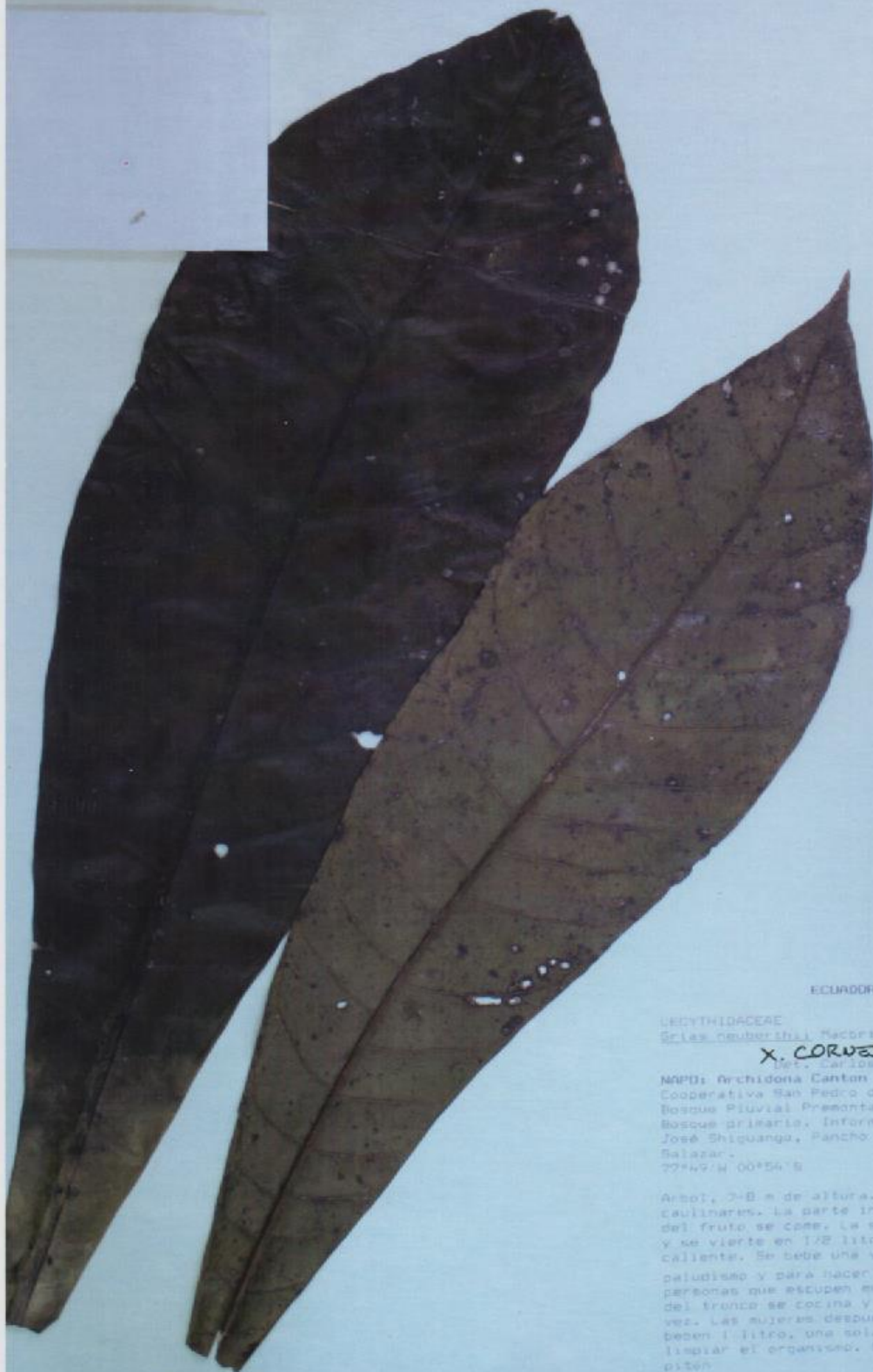
FLORA DEL ECUADOR



187622
 QCAE
 INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
 MEXICO NACIONAL



*67230



ECUADOR

LECYTHIDACEAE

Sciaenobolus Macbride

X. CORUJO, 2016

1990 Carlos Cerón, 1990 (DAP)

NMPO: Archidona Canton
Cooperativa San Pedro de Aycullecta.
Bosque Pluvial Premontano, Diarás y
Bosque primario. Informantes: Juan &
José Shiguanga, Pancho y Benancio
Salazar.
77°45'W 00°54'S 1000 m

Arbol, 7-8 m de altura. Flores
caulinares. La parte interna (amarilla)
del fruto se come. La semilla se raspa
y se vierte en 1/2 litro de agua
caliente. Se bebe una vez en caso de
paludismo y para hacer vomitar a las
personas que escupen mucho. La corteza
del tronco se cocina y se bebe una sola
vez. Las mujeres después del parto
beben 1 litro, una sola vez para
limpiar el organismo. Nombre quichua:
piten

10 Sept. 1990
Carlos Cerón & Ricardo Salazar 11963
HERBARIO NACIONAL DEL ECUADOR (QCAE)
www.hnec.org.ec GARDEN HERBARIUM (MO)

INSTITUTO ECUATORIANO DE CIENCIAS NATURALES
OCNE
HERBARIO NACIONAL
097750



Ecuador
LECYTHIDACEAE
Grisia neuberghii Macbride
X. CORNEJO, 2016.
Det. A. Alvarez, 1991-0630
Sucumbios, Gonzalo Fizarro
Comunidad Cofán de Sinaguá, río
Aguarico Km 53 vía Quito. Bosque
secundario. Bosque muy húmedo
Pre-Montano.
00°05'N 77°26' 500 m
Arbol de 30 m de altura. Hojas
alternas. Flores amarillentas. Usos:
el agua producto de haber cocinado las
semillas, se utiliza para producir
vómito. Los frutos son comidos por
guantas. Nombre común: T'cucho.
23 noviembre 1991
Aida Alvarez, J. Shuira.
C. Dahua & J. Usenda (informante) 147
HERBARIO NACIONAL DEL ECUADOR (OCNE)
MISSOURI BOTANICAL GARDEN HERBARIUM (MO)



56789



ECUADOR
LECYTHIDACEAE
Grias neuberghii Macbride
X. CORNEJO, 2016!
Det. D. Neill 1990

Province of NAPO. Canton Tena.
Rio Blanco community. Headwaters of Rio
Huamburo. 6 km NNW of Ahuano.
Tropical Wet Forest life zone.
77 40'W; 1 00'S. 440 m elev.

Primary forest, 1 m tall sapling, seed
from which sapling sprouted visible.
Quichua: piton suru mallqui
Used medicinally as an emetic in the
treatment of malaria.

4/10-12/1990
Eduardo Kohn 1159
OSBERLIN COLLEGE DEPT. OF BIOLOGY



84

56808



LECYTHIDACEAE
Ecuador
Grias neuberthii Macbride
X. CORWY, 2016
Det. D. Neill 1990

Province of NAPO. Canton Tena.
Rio Blanco community. Headwaters of
Rio Rumbuno, 6 km NNW of Ahuano.
Tropical Wet Forest life zone.
Irregular hilly terrain.

77 40' W; 01 00' S. 440 m elev.

Primary forest. tree,
cauliflorous flowers and fruits.
Quichua: piton, pitun
Used medicinally for malaria, hunting
magic, as emetic given to family of
mother after birth.

2/9-10/1990
Eduardo Kohn 1002
OBERLIN COLLEGE DEPT. OF BIOLOGY



17977



Herbarium Bull. Co. Inc.
MONTVALE, N. J. 07045

ECUADOR

LECTITHIDACEAE

Grias neuberthii Macbr.

1
X. CORNEJO 2016.
Det. D. Neill (MO) 1989

NAPO:

Canton Tena. Atahualpa. 5 km east of Puerto Napo. Alluvial soil near banks of Rio Napo. Tropical Wet Forest. Cultivated area; medicinal and edible plants; with ethnobotany class. Informants: Luis Cerda, Pascual Tapuy. 01.02S 77.57W 500 m
Quichua: pitón.

Tree 10 m tall. Flowers yellow, cauliflorous. Edible fruit. Bark infusion given to women after childbirth induces vomiting and "cleanses" her.

David Neill & 6 January 1989
School for Field Studies 8683
MISSOURI BOTANICAL GARDEN HERBARIUM (MO)



2010



RB 2828 LECYTHIDACEAE
 Grías neubertii J.F. MacGR. !
 Quichua: Pitón X. Colberg 2016
 Español:
 Planta de 7 m. de alto, con hojas abundantes
 cerca de la rama principal. Frutos pegados
 al tronco.
 Usos: Para dolor de estómago, tratamientos
 después del parto.
 Prep.: -a: sección interna se toma y se hierve
 en agua y toma la persona afectada o la
 mujer después de para 8 días el parto. Este
 tratamiento provoca vómito y limpia el organismo
 de la parturienta.

HERBARIO QCA
 Pontificia Universidad Católica del
 Ecuador, Quito, en colaboración con
 MUSEO ANTROPOLÓGICO
 del Banco Central del Ecuador, Guayaquil

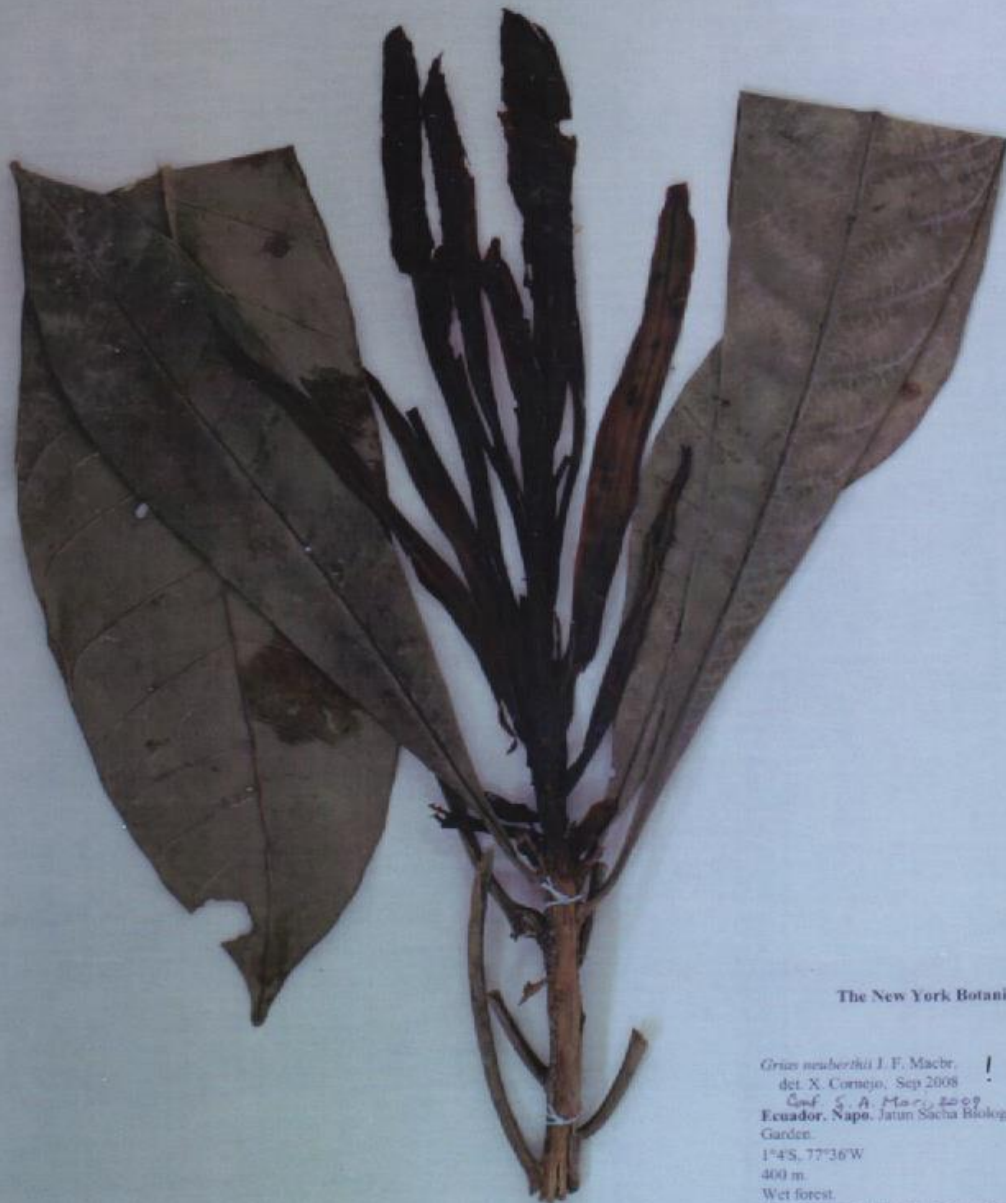
LA ETNOBOTANICA DE LOS QUICHUAS
 ECUAIDOR

(5) NAPI: Río Napo, isla cerca la boca
 de Río Jivino, 00°28'S; 76°13'W, alt.
 200 m.s.n.m. Plantación cerca de zona
 indígena en zona de bosque húmedo
 tropical. Información: Srs. Andi y
 Licui. 19 Aug 1982.
 H. BAILEY y SANTOS DEA No. 2828

RB 2828-05



0228640



Legitima M. J.

The New York Botanical Garden

Lecythidaceae

Grisia neuberghii J. F. Macbr. ! 2016.
det. X. Comejo, Sep 2008

Col. S. A. Mar. 2009
Ecuador, Napo, Jatun Sacha Biological Station, Botanical Garden.

1°4'S, 77°36'W
400 m.

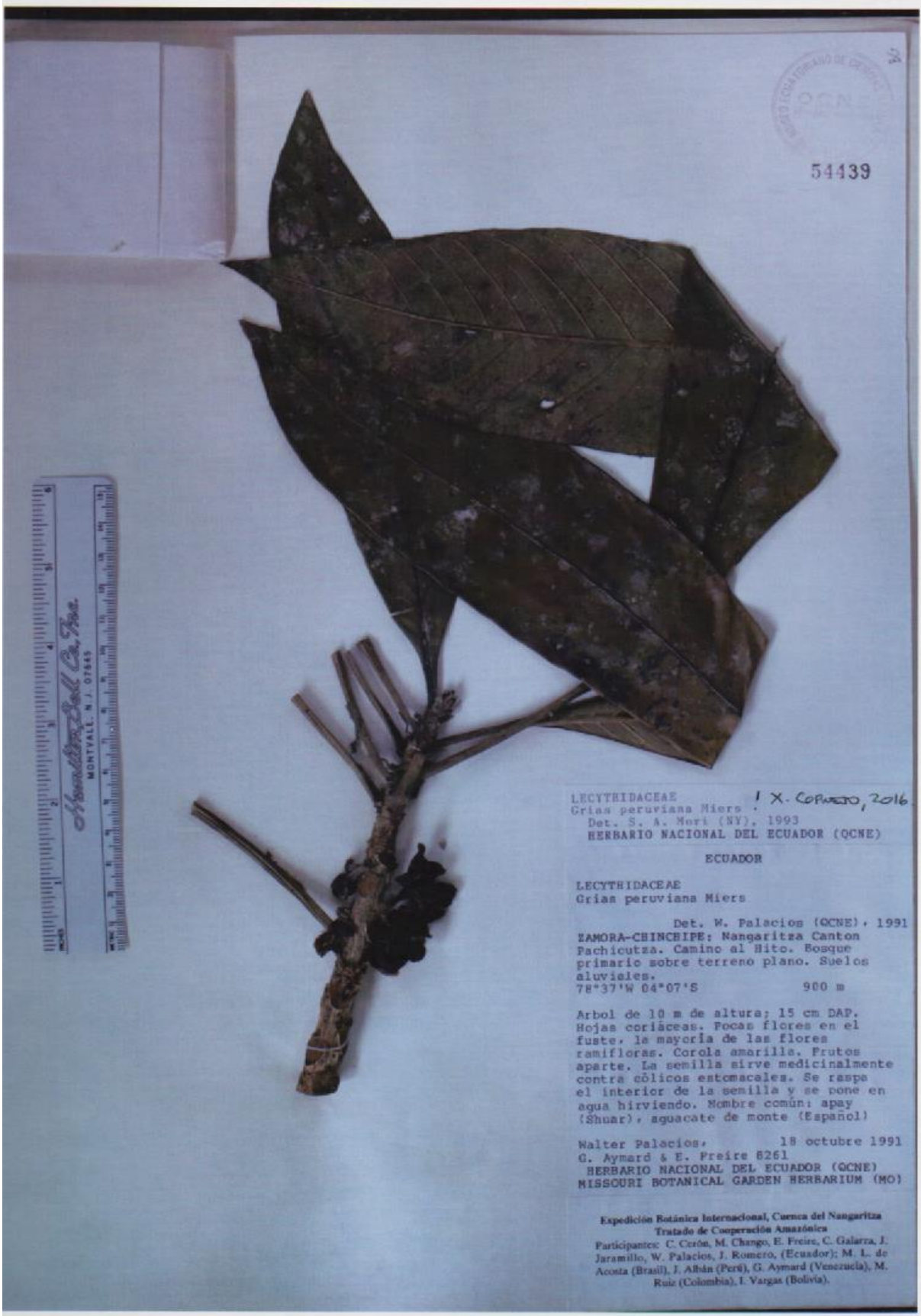
Wet forest.
Branched tree, 8 m tall x 35 cm dbh. Leaves to 100 x 18 cm. Cauliflorous. Flowers yellow, filaments are initially yellow, turning reddish at anthesis. The whole center of the flower turns red at postanthesis. The flowers are visited and perhaps pollinated by black *Trigona* bees (preserved). Fruit brown outside, the pulp is white when immature, turning bright-orange at maturity, embryo white. Frequent.

Uses: The pulp is edible, uncooked or grilled (asada). The bark is boiled and the water drunk against parasites. The bark is burnt in fire, the hot ashes are directly applied on wounds to cure *Leishmaniasis*.

N.V. Pinón FRUTO AZARTE
09 Sep 2008

X. Comejo, H. Grochowski 8044

SYM



LECYTHIDACEAE *Grias peruviana* Miers ^{1 X. Cornejo, 2016}
Det. S. A. Mori (NY), 1993
HERBARIO NACIONAL DEL ECUADOR (QCNE)

ECUADOR

LECYTHIDACEAE
Grias peruviana Miers

Det. W. Palacios (QCNE), 1991
ZAMORA-CHINCHIPE: Nangaritza Canton
Pachicutza. Camino al Hito. Bosque
primario sobre terreno plano. Suelos
aluviales.
78°37'W 04°07'S 900 m

Arbol de 10 m de altura; 15 cm DAP.
Hojas coriáceas. Pocas flores en el
fuste, la mayoría de las flores
ramifloras. Corola amarilla. Frutos
aparte. La semilla sirve medicinalmente
contra cólicos estomacales. Se raspa
el interior de la semilla y se pone en
agua hirviendo. Nombre común: apay
(Shuar); aguacate de monte (Español)

Walter Palacios, 18 octubre 1991
G. Aymard & E. Preire 8261
HERBARIO NACIONAL DEL ECUADOR (QCNE)
MISSOURI BOTANICAL GARDEN HERBARIUM (MO)

Expedición Botánica Internacional, Cuenca del Nangaritza
Tratado de Cooperación Amazónica
Participantes: C. Cerón, M. Chango, E. Freire, C. Galarza, J.
Jaramillo, W. Palacios, J. Romero, (Ecuador); M. L. de
Acosta (Brasil), J. Albán (Perú), G. Aymard (Venezuela), M.
Ruiz (Colombia), I. Vargas (Bolivia).

ET 02-2016

3



REGISTRO

Flora del Ecuador

Leguminosae

544 *Grisea reuberthii* J. F. Macbr.
X. CORUJO 2016
Pastaza, Canelos, 850 m de altitud, 1° 34' S, W 1° 34' S.
Bosques secundarios

Arbol 12 m

Alimentación, Medicinal, Ceremonial

La información Etnobotánica puede ser consultada en:
Báez, 1998. "Diversidad y abundancia de plantas útiles en
dos comunidades de la Amazonia Ecuatoriana". Tesis de
Licenciatura. PUCE, Quito.
DINA, 1998. Reporte técnico No. 3

Silvestre y cultivado

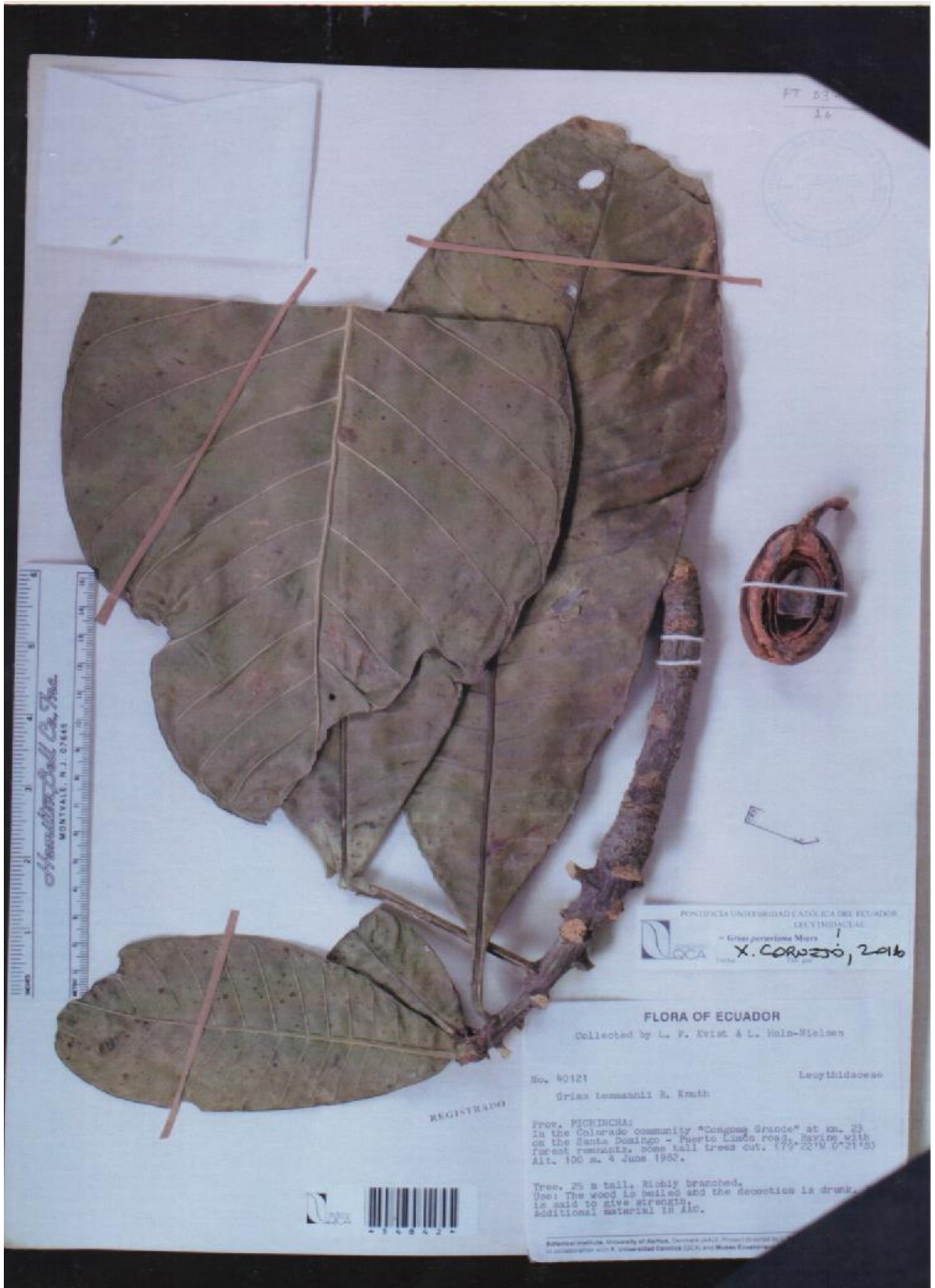
5-06-1997

Silvino Báez, A. Backlund, B.

Ståhl, B. Dillgaard

Centro para la Investigación Científica y Diversidad Biológica de
los Bosques Pluviales Andinos (DIBA)





PT 03
18



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
LEUCYTHIDACEAE
X. Corzo, 2016

FLORA OF ECUADOR

Collected by L. F. Ewing & L. Holm-Nielsen

No. 40121 Leucythidaceae
Grias tomannii R. Knuth

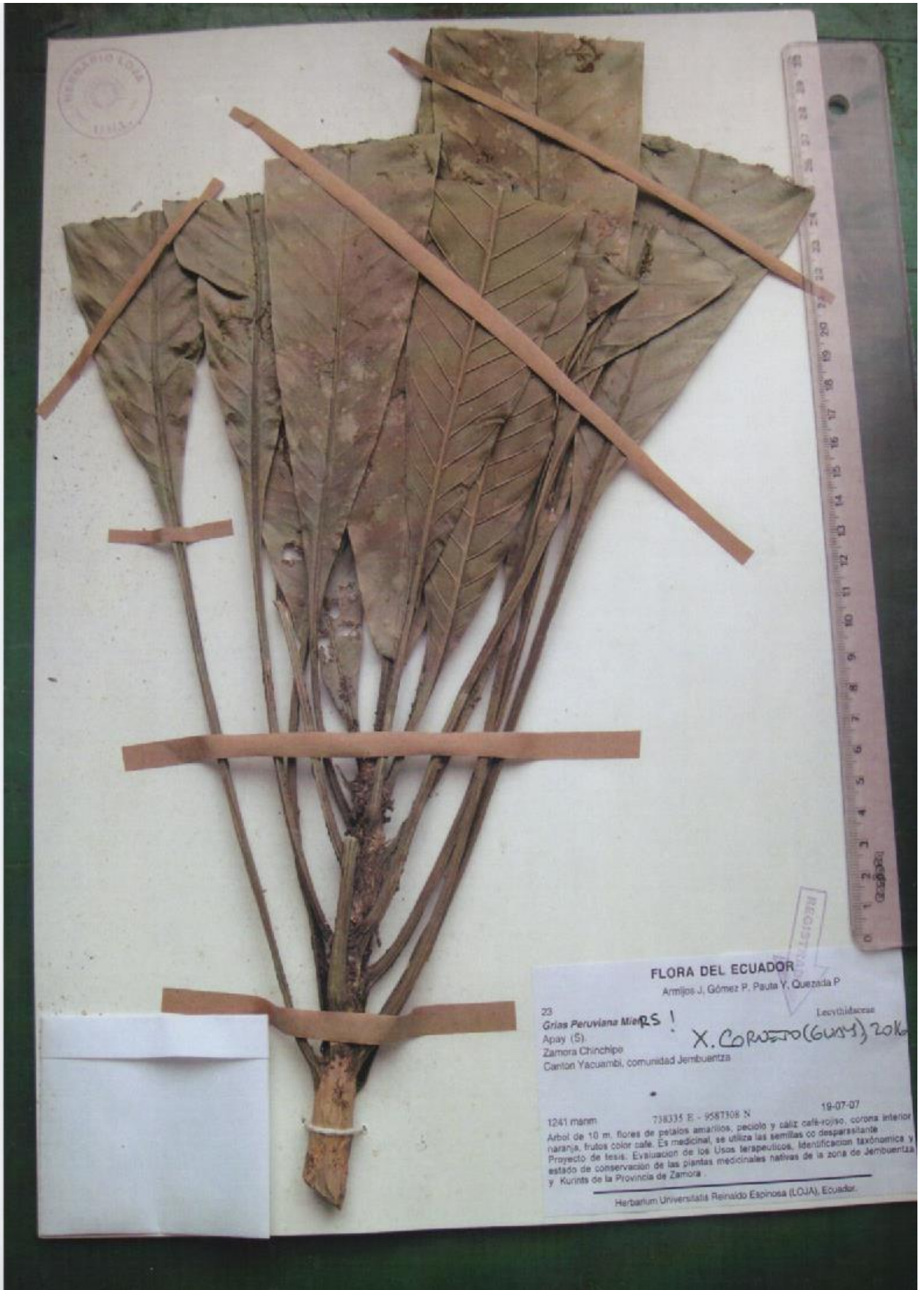
REGISTRADO

Prov. PICHINCHA:
In the Cotacachi community "Cangas Grande" at km. 23
on the Santa Domingo - Pucallpa Road. Ravine with
forest remnants; some tall trees cut. 1°25' S 78°21' W
Alt. 100 m. 4 June 1980.

Tree. 25 m tall. Richly branched.
Use: The wood is boiled and the decoction is drunk.
It is said to give strength.
Additional material in hb.



Herbario Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador. Project funded by Pontificia Universidad Católica (PUC) and Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales (MECN).



FLORA DEL ECUADOR

Armijos J., Gómez P., Pauta Y., Quezada P.

23

Grias Peruviana MiERS!

Apay (S)

Zamora Chiriqui

Canton Yacuambi, comunidad Jembuentza

Leucythaceae

X. CORAZO (Guss.) ZOLA

1241 manm

738335 E - 9587308 N

19-07-07

Arbol de 10 m. flores de pétalos amarillos, peciolo y cáliz café-rojo, corona interior naranja, frutos color café. Es medicinal, se utiliza las semillas o desparasitante Proyecto de tesis: Evaluación de los Usos terapéuticos, identificación taxonómica y estado de conservación de las plantas medicinales nativas de la zona de Jembuentza y Kurints de la Provincia de Zamora.

Herbarium Universitatis Reinaido Espinosa (LOJA), Ecuador.



82

15363



FLORA DEL ECUADOR
Recursos Botánicos del Bosque Tropical

Lecythidaceae

Grias ^{peruviana} *MICRS!*
X. CORNEJO, 2016

MORONA SANTIAGO, Los alrededores del Centro Tiink; cerca Bombiza; 600m
Bosque secundario, plano; haz verde oscuro, envés verde claro; flor amarilla; fruto café, ovalado.

Shuar nombres: APAI

Se come el fruto, se bota la semilla; la papa sirva como remedio contra a la desenteria; los tallos secos sirve para la leña.

Hector Jimpikiz M. EBAE2000 5 de Agosto 1985





FLORA DEL ECUADOR

Armijos J, Gómez P, Páuta Y, Quezada P

78

Grias peruviana Miq. **RS. !**

Lecythidaceae

Apay (S)

Zamora Chinchipe

Canton Yacuambi, Comunidad Shuar Kurintz

X. CORWETO (GUA), 2016

887 ms.n.m

33103 E - 9581784 N

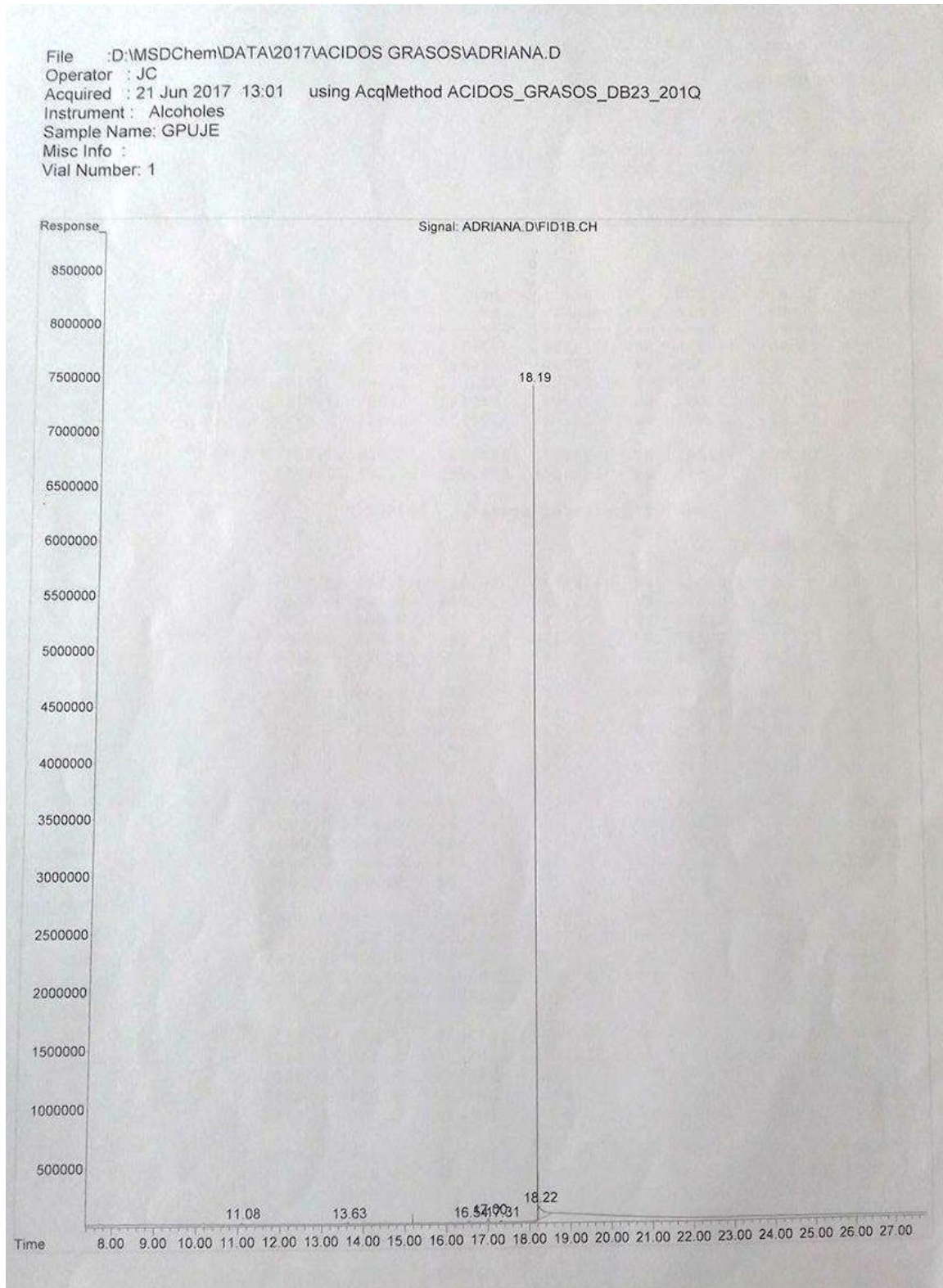
2007-09-07

Arbol de 10 m tronco con yemas. Hojas en penacho, hasta 60 cm de largo y hasta 20 cm de ancho. Frutos "caulifloros", es medicinal se utiliza el tuberculo para recaida del parto. Evaluacion de los Usos terapeuticos, Identificacion taxonomica y estado de conservacion de las plantas medicinales nativas de la zona de Jembuentza y Kurintz de la Provincia de Zamora.

Herbarium Universitatis Reinaido Espinosa (LOJA), Ecuador.

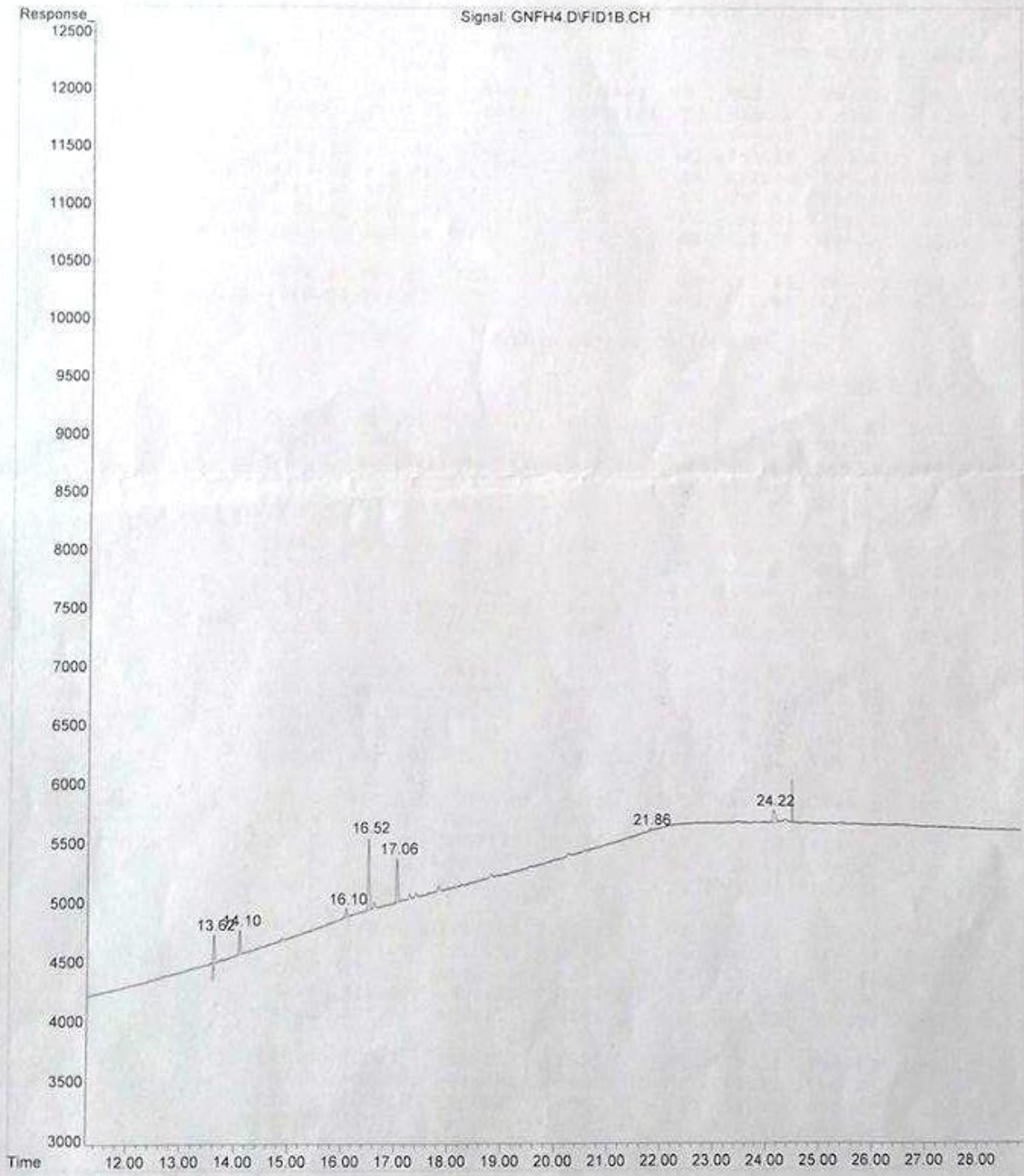
Anexo 2. Espectros de Cromatografía de Gases con detector de ionización de llama (GC-FID) de extractos esterificados de ambas especies.

Grias peruviana



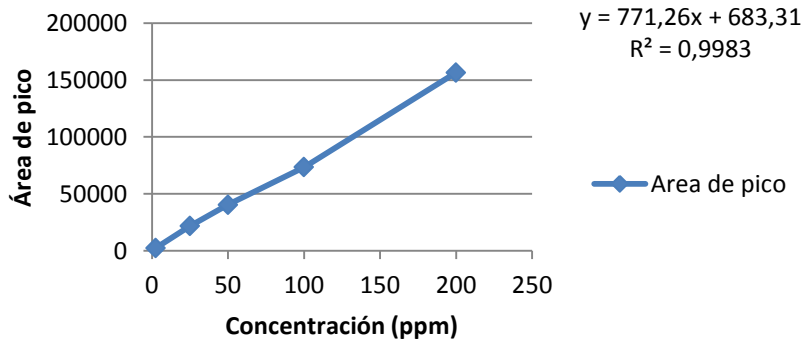
Grias neuberthii

File :D:\MSDChem\DATA\2017\ADRIANA AGUIRRE\DB23\GNFH4.D
Operator : JC
Acquired : 09 May 2017 9:05 using AcqMethod ACIDOS_GRASOS_DB23_201Q
Instrument : Alcoholes
Sample Name: GNFH4
Misc Info :
Vial Number: 2

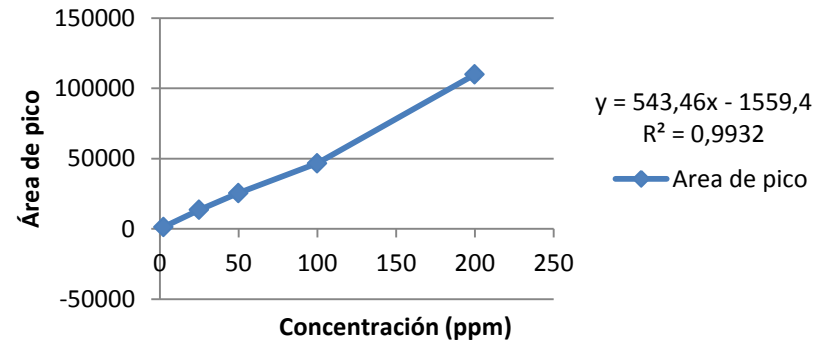


Anexo 3. Curvas de calibración para la determinación de la concentración de ácidos grasos.

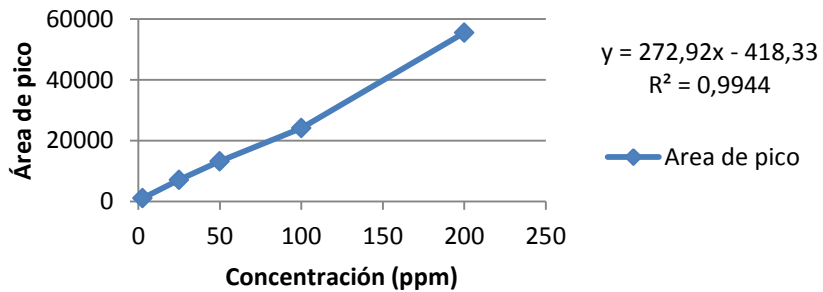
Curva de calibración de ácido palmítico



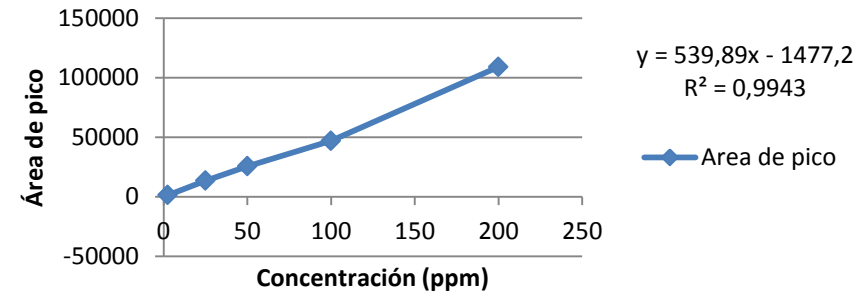
Curva de calibración de ácido esteárico



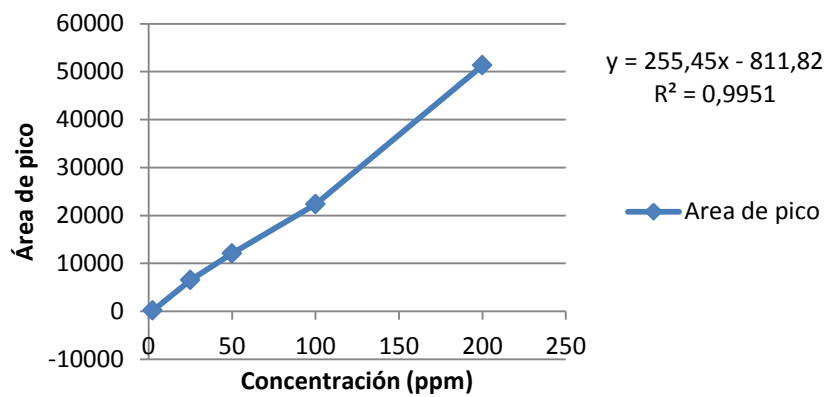
Curva de calibración de ácido eláídico



Curva de calibración de ácido oleico



Curva de calibración de ácido linoleico



Curva de calibración de ácido eurico

