

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTOBÁL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Contenido de glicoalcaloides esteroideos totales en las
hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum
radicans* L. y determinación de su bioactividad frente a
Artemia salina. Ayacucho 2017.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR EL:

Bach. RETAMOZO MONTES, Abidman

Ayacucho-Perú

2018

A Dios por su infinito amor y por ser la luz que guía nuestras vidas. Con amor y gratitud a mis padres Delfín y Yolanda por brindarme siempre el apoyo moral y económico en mi formación profesional. A mis hermanos y tíos por el apoyo incondicional que encontré en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

A mi *Alma Mater* Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por haberme acogido cinco años en sus aulas y por ser forjador de excelentes profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y a los docentes, por sus invalorable esfuerzos realizados con el objeto de transmitir conocimientos e inculcar valores, para mantener siempre en alto el nombre de la profesión y servir a la sociedad.

Al Químico farmacéutico Enrique Aguilar Felices, asesor del presente trabajo de investigación quien me brindó su valiosa colaboración y acertada dirección en el desarrollo y culminar esta investigación.

Asimismo, expreso mi gratitud a todas aquellas personas que de una u otra forma me brindaron su apoyo, sugerencias y consejos durante la realización del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xvii
I..INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. <i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi”	4
2.3. <i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku”	5
2.4. Glicoalcaloides	6
2.5. Evaluacion de la actividad biologica	10
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1. Tipo de investigación	13
3.2. Definición de la población y muestra	13
3.3. Metodologia y recolección de datos	13
3.4. Bioensayo de toxicidad de <i>Artemia salina</i> (CYTED, 1995)	15
3.5. Análisis de datos	16
IV. RESULTADOS	17
V. DISCUSIÓN	21
VI. CONCLUSIONES	27
VII. RECOMENDACIONES	29
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
IX. ANEXOS	35

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Clasificación de toxicidad según CYTED.	11
Tabla 2. Identificación cualitativa de los glicoalcaloides esteroidales totales en hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. y <i>Solanum radicans</i> L. Ayacucho 2017.	17
Tabla 3. Alcaloide equivalente de solanina en hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. y <i>Solanum radicans</i> L de alcaloides totales extraídos. Ayacucho 2017.	18
Tabla 4. Concentración letal media (CL ₅₀) de los extractos de hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. y <i>Solanum radicans</i> L frente a los nauplios de <i>Artemia salina</i> . Ayacucho 2017	19

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Biosíntesis de glicoalcaloides del género <i>Solanum</i> .	Página 7
Figura 2.	Estructuras de la α -solanina y α -chaconina	8
Figura 3.	Metamorfosis de la <i>Artemia salina</i> .	12

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de identificación botánica de <i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi” Ayacucho 2017.	37
Anexo 2. Descripción botánica y hábitat de <i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi” Ayacucho 2017	38
Anexo 3. Certificado de identificación botánica de <i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku” Ayacucho 2017	39
Anexo 4. Flujograma del procedimiento para la obtención de glicoalcaloides esteroidales totales de hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. y <i>Solanum radicans</i> L. Ayacucho 2017.	40
Anexo 5. Flujograma del procedimiento para la curva de calibración de glicoalcaloides esteroidales totales de α -solanina. Ayacucho 2017.	41
Anexo 6. Flujograma del procedimiento para la cuantificación espectrofotométrica de glicoalcaloides esteroidales totales de hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. y <i>Solanum radicans</i> L. Ayacucho 2017.	42
Anexo 7. Flujograma del procedimiento de bioensayo de toxicidad en <i>Artemia salina</i> . Ayacucho 2017.	43
Anexo 8. Hojas y frutos recolectadas de <i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi” y <i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku”. Ayacucho 2017.	44
Anexo 9. Desengrasado y despigmentado con éter de petróleo el extracto acuoso ácido de hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi” y <i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku” en el laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	45
Anexo 10. Extractos de hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi” y <i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku” en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	46
Anexo 11. Precipitado obtenido de hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi” y <i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku” en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho	

2017.	47
Anexo 12. Identificación de glicoalcaloides esteroideos totales hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi” y <i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku” en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	48
Anexo 13. Lectura de las absorbancias del estándar en el espectrofotómetro UV para determinar la curva de calibración y posteriormente la lectura de los extractos hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi” y <i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku” Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	49
Anexo 14. Barrido espectral de α -solanina (sigma Aldrich) en laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	50
Anexo 15. Barrido espectral de <i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku” frutos en el laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	51
Anexo 16. Barrido espectral de <i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi” frutos en el laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	52
Anexo 17. Preparación de diluciones con los extractos de hojas y frutos <i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi” y <i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku” y luego se agrega los nauplios en el laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	53
Anexo 18. Conteo el número de sobrevivientes de los nauplios en el laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	54
Anexo 19. Valoración y test de linealidad de la solución estándar de α -Solanina (Sigma Aldrich) Ayacucho 2017.	55
Anexo 20. Curva de calibración de glicoalcaloides esteroideos totales de α -Solanina (Sigma Aldrich) Ayacucho 2017.	56
Anexo 21. Análisis de varianza de miligramo de alcaloide equivalente de solanina por droga seca de hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi” y <i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku”. Ayacucho 2017.	57
Anexo 22. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey para miligramo de alcaloide equivalente de solanina por droga seca de glicoalcaloides esteroideos totales de hojas y	

	frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi” y <i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku”. Ayacucho 2017.	58
Anexo 23.	Representación del cálculo de la concentración letal (CL ₅₀) con software PROBITS de <i>Solanum radicans</i> L. “nuchku” fruto verde. Ayacucho-2017	59
Anexo 24.	Representación del cálculo de la concentración letal (CL ₅₀) con software PROBITS de <i>Solanum radicans</i> L. “nuchku” hojas. Ayacucho-2017	60
Anexo 25.	Representación del cálculo de la concentración letal (CL ₅₀) con software PROBITS de <i>Solanum hispidum</i> Pers. “nahui toqyachi” fruto verde. Ayacucho-2017.	61
Anexo 26.	Representación del cálculo de la concentración letal (CL ₅₀) con software PROBITS de <i>Solanum hispidum</i> Pers. “nahui toqyachi” hojas. Ayacucho-2017.	62
Anexo 27.	Matriz de consistencia Ayacucho 2017.	63

RESUMEN

La solanaceae muchas de ellas, son conocidas por el elevado contenido en alcaloides. En el presente trabajo de investigación se cuantificó los glicoalcaloides esteroidales totales en hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L. y se determinó su bioactividad frente a *Artemia salina*. La especie en estudio fue recolectada del distrito de Carmen alto y en el distrito de Jesús Nazareno, región Ayacucho-Perú. Las pruebas de identificación de los glicoalcaloides esteroidales totales de las hojas y frutos *S. hispidum* Pers. y *S. radicans* L. se realizó según Lock y barrido espectral en el espectrofotómetro. Se realizó la cuantificación espectrofotométrica de glicoalcaloides esteroidales totales expresados como solanina mediante el método descrito por Peña, a 408 nm, encontrándose la concentración en *S. hispidum* Pers. $0,95 \pm 0,008$ y $3,58 \pm 0,091$ mg por 1 g de hojas y frutos secas, y en *S. radicans* L. $3,63 \pm 0,004$ y $3,72 \pm 0,008$ mg por 1 g de hojas y frutos secos.

Posteriormente se determinó la bioactividad de glicoalcaloides esteroidales totales obtenidas de hojas y frutos de *S. hispidum* Pers. y *S. radicans* L. frente a *Artemia salina* mediante el método (CYTED, 1995). Se calculó la concentración letal media (CL_{50}) con PROBITS por cada extracto sobre los nauplios. La actividad citotóxica (CL_{50}) se evidencio en el siguiente orden: *S. radicans* L. frutos ($CL_{50} = 6,40$ ug/mL) > *S. hispidum* Pers. hojas ($CL_{50} = 10,42$ ug/mL) > *S. hispidum* Pers. fruto ($CL_{50} = 11,47$ ug/mL) > *S. radicans* L. ($CL_{50} = 14,67$ ug/mL). Además, *S. radicans* L. (frutos) mostro la CL_{50} más baja o citotoxicidad extremadamente toxico mientras en *S. radicans* L. (hojas) y *S. hispidum* Pers. (hojas y frutos) exhibió una citotoxicidad altamente toxico. Concluyéndose que en las condiciones experimentales se ha demostrado que las hojas y frutos de *S. radicans* L. y *S. hispidum* Pers. contienen glicoalcaloides esteroidales y también presenta bioactividad toxica frente a *Artemia salina*.

Palabras claves: Glicoalcaloides esteroidales, *Solanum hispidum* Pers., *Solanum radicans* L., bioactividad, *Artemia salina* y concentración letal media (CL_{50})

I. INTRODUCCIÓN

La familia Solanaceae es una de las más ricas en especies en la flora peruana, siendo reconocida con alrededor de 42 géneros y 600 especies.¹ Del mismo modo, los alcaloides constituyen el grupo más grande de metabolitos secundarios de plantas², como por ejemplo especies de la familia Solanaceae, cuya característica principal es la presencia de alcaloides que pueden estar presentes en el follaje y en el fruto en estado inmaduro.³ Estas plantas por lo general son de uso medicinal y se han utilizado desde tiempos inmemoriales. Hoy, las aplicaciones de los alcaloides se pueden encontrar en diversas áreas de la economía, industria, comercio y servicios.

Los glicoalcaloides esteroidales totales se conocen cerca de una docena, lo más comunes son la α -solanina y la α -chaconina cuya concentración varía de acuerdo con el tipo de suelo, las condiciones ambientales, la parte de la planta y el estado de desarrollo; la mayor concentración de α -solanina se encuentran en las semillas inmaduras.²⁴

En este contexto, ya que no se reportado hasta hoy el contenido de glicoalcaloides esteroidales totales en *Solanum hispidum* Pers, y *Solanum radicans* L, y dada las potencialidades terapéuticas de los alcaloides contenidos en especies del género *Solanum*, nos hemos propuesto cuantificar, en las hojas y frutos, el contenido de glicoalcaloides esteroidales totales, expresado como equivalentes de solanina, empleando técnicas instrumentales sencillas.

Este estudio contribuye al conocimiento de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L. en su contexto fitoquímico, contribuyendo así a su revaloración. Los resultados cuantitativamente significativos de glicoalcaloides totales esperados convertirán a *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L. en una fuente importante de dichos metabolitos, sirviendo, además, de referencia para estudios preclínicos posteriores con esta especie, su

caracterización química más rigurosa, así como la capacidad de aislarse como moléculas puras o modificarse. Todo ello con un solo fin, aliviar las dolencias de la población y mejorar su calidad de vida. Respecto a la técnica instrumental se ha elegido el método colorimétrico (espectrofotometría UV/Vis), que resulta ser económico dada la cantidad de muestras a analizar y el manejo reducido de solventes. La técnica por HPLC es preferible en la detección de un gran número de especímenes debido a sus ventajas de alto rendimiento y alta sensibilidad, sin embargo, en el caso de un número pequeño de especímenes, el funcionamiento de la instrumentación HPLC demanda mucho tiempo, es complejo y costoso. El HPLC también emplea a veces disolventes tóxicos tales como acetonitrilo y metanol en la operación y puede ser tóxico después de una exposición a largo plazo.

Para la determinación de las propiedades de las plantas medicinales, la combinación de evaluaciones fitoquímicas y biológicas es usada frecuentemente en el estudio de plantas medicinales, ya que de esta forma se correlaciona la composición química con el potencial biológico de drogas y sus extractos. Entre las pruebas biológicas, el bioensayo de la *Artemia salina* se ha empleado en la evaluación preliminar de extractos y productos aislados de plantas, demostrando ser útil, rápido y sencillo. Además, los metabolitos secundarios son los responsables de la actividad medicinal de las plantas.²³

Objetivo general

Determinar el contenido de glicoalcaloides esteroidales totales en hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L. y su bioactividad frente a *Artemia salina*.

Objetivo específico

- Identificar la presencia de glicoalcaloides esteroidales totales en los extractos obtenidos en hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L.
- Cuantificar el contenido de glicoalcaloides esteroidales totales en hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L.
- Determinar la bioactividad frente a *Artemia salina* con contenido de glicoalcaloides esteroidales totales en hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

Sánchez, Yokoyama, Hong, *et al.* cuantificaron los glicoalcaloides en *Solanum macrocarpon* y *Solanum aethiopicum* en comparación con *Solanum melongena* L. Se utilizó la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas. Los frutos de *S. aethiopicum* y *S. melongena* contenían 0,58-4,56 mg/100 g de α -solamargina y 0,17-1 mg/100 g de α -solasonina. Los frutos de *S. macrocarpon* tenían valores mucho más altos de α -solamargina (124-197 mg/100 g) y α -solasonina (16- 23 mg / 100 g).⁴

Soto determinó la concentración de glicoalcaloides esteroidales totales de las hojas de *Solanum habrochaites* S. Knapp & DM Spooner (Solanaceaea). Se realizó la cuantificación espectrofotométrica de glicoalcaloides esteroidales totales expresados como solanina mediante el método descrito por Peña. La concentración de glicoalcaloides esteroidales totales fue de $1,1212 \pm 0,0046$ g por 100 g de hojas secas.⁵

Pérez, Muñoz, García, *et al.*, efectuaron una comparación del contenido de alcaloides totales y la presencia de solasodina en plantas de *Solanum torvum* Sw que crecen en Chiapas, México, y plantas de la misma especie que crecen en la India. La cantidad de alcaloides totales (0,12%) fue la misma en las plantas de Chiapas que en las plantas de India, pero la solasodina se encontró solamente en las plantas de Chiapas. Además, se determinó la cantidad total de glicoalcaloides (0,038%) y de dos compuestos glicosilados derivados de solasodina, solasonina (0,0043%) y solamargina (0,0028%).⁶

Castillo, Hurtado y Chamorro implementaron un proceso para la extracción, purificación, identificación y cuantificación de la solasodina presente en frutos de *Solanum wrightii* Benth y *Solanum pseudocapsicum* L. Se logró separar un compuesto con punto de fusión de 202°C, que corresponde al de la solasodina

estándar. La solasodina obtenida presentó una coloración amarilla y un rendimiento de 0,074% en base seca.⁷

Barahona y Guevara determinaron el contenido de alcaloides esteroidales en el extracto alcohólico del fruto del *Solanum mammosum* (chichigua) por cromatografía de capa fina así como por diferentes reacciones de color. Los resultados obtenidos por reacciones preliminares de identificación, cromatografía en capa fina y técnica preparativa en placa, demostraron que el extracto alcohólico presenta alcaloides esteroidales; las técnicas utilizadas son sencillas y eficaces para su identificación aun en presencia de otros compuestos como flavonoides y glucoalcaloides en el extracto.⁸

Rodolfo, Rosas, Martinez, *et al.* Evaluaron el efecto de *Solanum hispidum* sobre la proliferación de células hematopoyéticas *in vitro* e *in vivo*, demostrando que el extracto acuoso no ejerce ningún efecto citotóxico sobre células hematopoyéticas normales.⁹ Vieira, Marinho, Ferri, *et al.* Evaluaron los efectos protectores de los alcaloides esteroideos aislados de *Solanum paniculatum* L. Frente a las acciones citotóxicas y genotóxicas de la mitomicina. Los alcaloides esteroideos aislados de *S. Paniculatum* protegen fuertemente las células contra las actividades mutagénicas de la mitomicina C, así como la acción citotóxica modulada de la mitomicina C.¹⁰

El ensayo de letalidad de *Artemia salina* se basa en la posibilidad de causar la muerte de larvas de este crustáceo cultivadas en el laboratorio. Este método fue propuesto por Michael y otros en 1956, y posteriormente desarrollado por Vanhaecke en 1981 y otros, así como Sleet y Brendel en 1983, con el propósito de contar con una herramienta útil y sencilla para la determinación de toxicidad. Este método, en el cual se determina el valor de la concentración letal media (CL₅₀) de compuestos y extractos en medio salino, ha sido utilizado para la detección de toxinas de hongos y cianobacterias, toxicidad de extractos de plantas, metales pesados y para predecir citotoxicidad de compuestos puros.¹⁸

2.2. *Solanum hispidum* Pers.

2.2.1. Clasificación taxonomía

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA
CLASE : MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE : ASTERIDAE
ORDEN : SOLANALES
FAMILIA : SOLANACEAE

GÉNERO : *Solanum*
ESPECIE : ***Solanum hispidum Pers.***
N.V. : “ñahui toqyachi”

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* de la facultad de Ciencias Biológicas; UNSCH-2017. (Anexo 1)

2.2.2. Descripción botánica

Planta subarborescente de 1,5 m de alto aproximadamente, tallos algo retorcidos bastante ramificados desde la base, hojas simples, enteras de 14 – 20 cm de largo, ovada lanceoladas, alternas, los tallos y peciolo de las hojas provistas de pequeñas espinas y densamente pubescentes, los pelos de un color marrón. Inflorescencias cimosas, flores de 1,8 – 2,5 cm de largo, heteroclamídeas, bisexuales y pentámeras, sépalos soldados en la base que terminan en 5 dientes en el ápice, pubescente al igual que las hojas. Corola acampanada de un color azul violeta, formado por 5 pétalos soldados en la base y libres en la parte terminal. Androceo formado por 5 estambres libres y gineceo de ovario súpero con un estilo que termina en un estigma capitado. Fruto baya ovoide de aproximadamente 2 cm de diámetro, verdes cuando están inmaduros y amarillento al madurar (Anexo 2).

2.2.3. Hábitat

Crece en forma silvestre entre los 2700 a 3200 msnm, en lugares secos, al borde de caminos y terrenos abandonados (Anexo 2)

2.2.4. Usos medicinales

S. hispidum Pers. (Solanaceae) es un pequeño árbol que crece en las tierras altas de Chiapas, México, donde las hojas de esta especie han sido bien documentadas como medicina popular para curar los síntomas asociados con la micosis de la piel.¹¹

La infusión de las hojas se toma popularmente para tratar la tos, gastritis, úlceras crónicas, tumores y diversos tipos de anemia.⁹

2.3. *Solanum radicans* L.

2.3.1. Taxonomía

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA
CLASE : MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE : ASTERIDAE
ORDEN : SOLANALES
FAMILIA : SOLANACEAE
GÉNERO : *Solanum*

ESPECIE : *Solanum radicans* L.

N.V. : “ñuchku

” Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* de la facultad de Ciencias Biológicas; UNSCH-2017. (Anexo 3)

2.3.2. Descripción botánica

Planta herbácea anual, provista de un color fuerte y característico, generalmente se adapta a los suelos secos y pobres en sales y nutrientes; tallo herbáceo, ramificado ligeramente postrado, y fotosintético; hojas pinnatipartidas, alternas, pecioladas de color verde sin pubescencia de unos 9 cm de tamaño; inflorescencia racimo, dispuestas lateralmente; cáliz cinco sépalos libres, ligeramente unidos en la base; corola cinco pétalos fusionados de color blanco violáceo; androceo cinco estambres epipetalos, de color amarillo, con anteras desarrolladas en relación a los filamentos; gineceo ovario supero, bicarpelar, bilocular con numerosos óvulos de placentación central; fruto baya típica epicarpio de color amarillo – anaranjado con numerosas semillas.¹⁶

2.3.3. Hábitat

Se encuentra ampliamente distribuido en terrenos de cultivo, lugares húmedos, jardines y campos libres en tiempo de lluvias. En Perú su distribución se observa entre 1000 y 3000 msnm.¹⁶

2.3.4. Usos y formas de aplicación en la medicina tradicional.

Esta planta en infusión y mediante el lavado, se utiliza para desinflamar golpes, curar heridas, para el tratamiento de hemorroides. Ingestión de infusión para el tratamiento de las diarreas, y las hojas soasadas para el susto.

El zumo de las hojas tiernas previamente lavadas y molidas se usa para el mal de los niños de “babear” que al parecer es una afección de la cavidad bucofaríngea.

Los frutos de *Solanum radicans* L. “ñuchku” se utiliza como astringentes y antidiarreicos, especialmente en los niños. El jugo de los frutos y hojas también es empleado para hacer gárgaras y así eliminar el “patco” (escorbuto) de la boca de los recién nacidos.¹⁶

2.4. Glicoalcaloides

2.4.1 Química.

Los glicoalcaloides (GA) del género *Solanum* normalmente son alquilaminas esteroideas con el esqueleto C27 del colestano que se encuentran en la planta en forma de glicósidos. Los glicoalcaloides (GA), son derivados de esteroides,

biogénicamente muy relacionados a los triterpenoides tetracíclicos, del ciclohexanoperhidrofenantreno. Presentan punto de fusión menor a 200 °C y se encuentran frecuentemente como glicósidos en especies del género *Solanum* y otros.¹²

2.4.2. Biosíntesis

Las vías biosintéticas de la síntesis de glicoalcaloides (GA) aún no han sido totalmente aclaradas. Sin embargo, se acepta generalmente que el resto aglicona de los glicoalcaloides se deriva del colesterol (Figura 1).¹³ La biogénesis de los principales glicoalcaloides ha sido presentada y discutida en detalle en otras partes, y un resumen de las vías postuladas presentadas Se representa en la Figura 1.

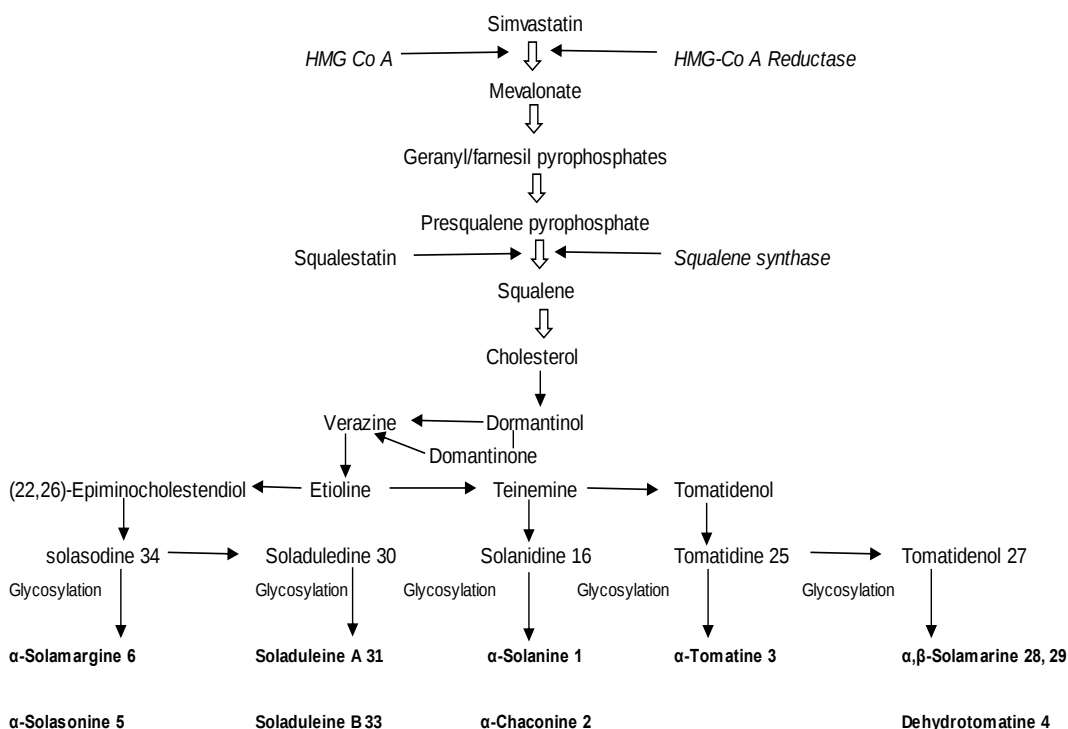


Figura 1. Biosíntesis de glicoalcaloides del género *Solanum*.

Fuente: Milner *et al.* Bioactivities of Glycoalkaloids and Their Aglycones from *Solanum* Species. 2011.

2.4.3. Rol fisiológico

Con respecto al rol fisiológico que cumplen los GA, se les ha clasificado como metabolitos de estrés y se considera que son importantes en el control de algunas enfermedades por hongos y por nematodos e insectos.¹² Los GA de la papa, α -solanina y la α -chaconina (Figura 2), son componentes importantes de la resistencia de las plantas contra plagas y patógenos, pero pueden ser tóxicas para los seres humanos en concentraciones más elevadas.¹⁴

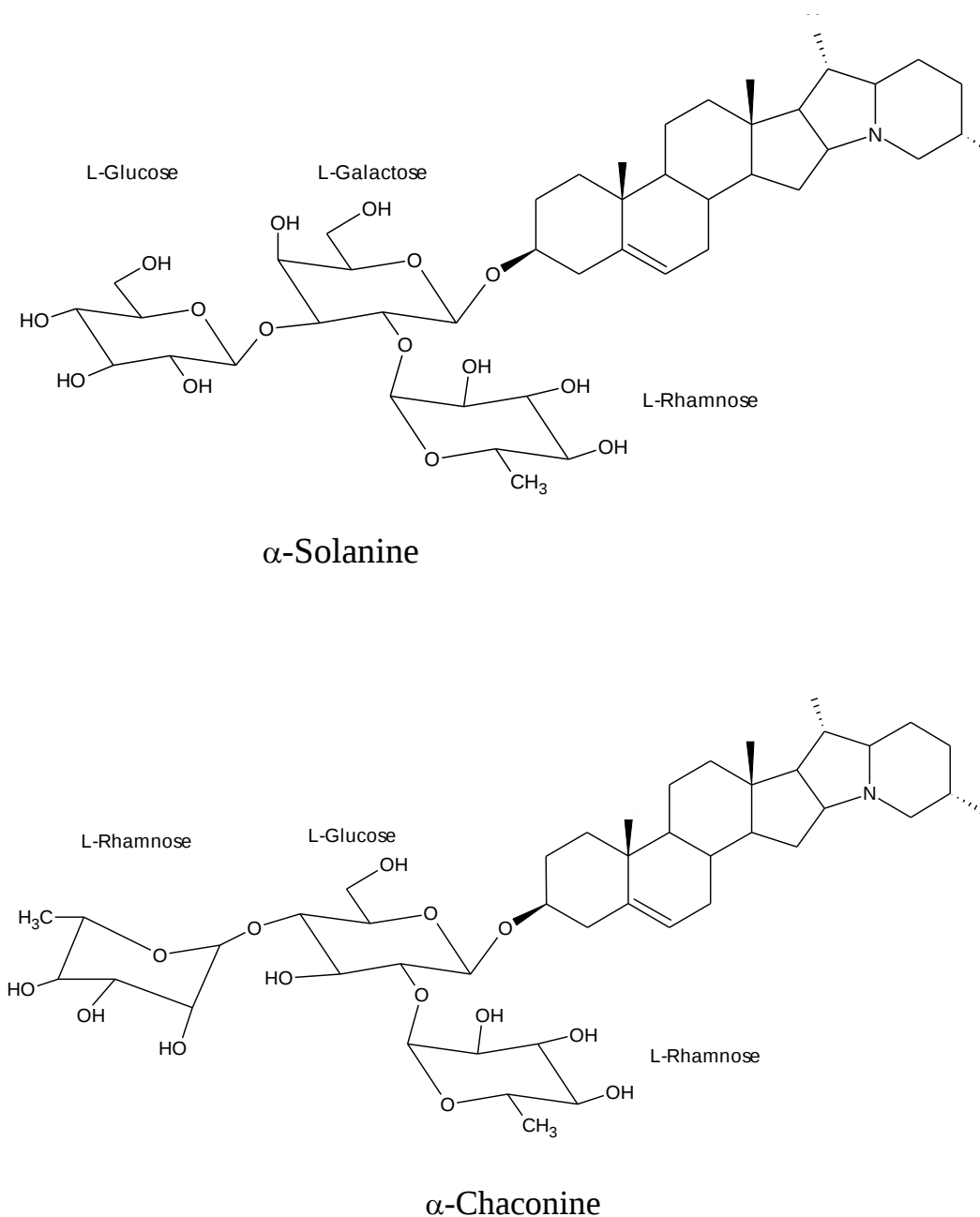


Figura 2. Estructuras de la α -solanina y α -chaconina.

Fuente: Wang H., *et al.* Electrochemical Determination of Glycoalkaloids Using a Carbon Nanotubes-Phenylboronic Acid Modified Glassy Carbon Electrode. 2013.

2.4.4. Propiedades farmacológicas

La solanina produce disminución de la actividad motora en ratones, aumento del tiempo de sueño en ratones tratados con pentobarbital, cambio del trazado de electroencefalogramas y aceleración de la velocidad respiratoria en conejos, efectos inotrópicos positivos similares al glicósido cardiotónico K-estrofantósido y efecto hemolítico. Diversos glicoalcaloides aislados de Solanaceas como solamargina y solasonina alteran el potencial de membrana y canales iónicos en embriones de *Xenopus laevis*. Otros como α -chaconina y α -solanina, alteran el potencial de membrana y el transporte activo de sodio en embriones de rana. Estas moléculas al igual que la α -tomatina, favorecen la pérdida de componentes celulares (iones, Ca^{2+} y proteínas), por desestabilización de la membrana celular. Usando modelos de membranas se demostró que los glicoalcaloides se insertan con su anillo aglicano en la membrana, mientras los azúcares forman un complejo tipo matriz, que causa la pérdida de función de barrera de la bicapa lipídica.¹²

Las concentraciones sub-citotóxicas de las GA de la papa y los extractos de la cáscara de la patata poseen efectos antiinflamatorios *in vitro* y con mayor investigación pueden ser útiles en la prevención de enfermedades antiinflamatorias. Como ingredientes alimentarios, se han estudiado los efectos anticancerígenos de las AG de la papa contra las células cancerosas del cuello uterino, del hígado, del linfoma y del estómago. También se han examinado los objetivos moleculares subyacentes a la actividad inductora de la muerte de las células de los AG. Los efectos anticarcinogénicos registrados de las GAs muestran que en las pruebas de α -chaconina y α -solanina puras aisladas, mezclas artificiales de los dos GAs y compuestos totales de GA de papas frescas, todas las muestras redujeron el número de las siguientes líneas celulares humanas: cervical (HeLa), hígado (HepG2), linfoma (U937), estómago (AGS y KATO III) y células hepáticas normales. Sin embargo, los efectos de los GAs fueron dependientes de la concentración en el rango de 0,117-11,7 μM .¹⁴

Los efectos que producen los glicoalcaloides son, por tanto, muy variados. Entre las principales alteraciones se pueden producir trastornos gastrointestinales a dosis media y si la dosis es elevada, pueden producir inhibición de la acetilcolinesterasa y efectos teratogénicos, desórdenes neurológicos, hemorragias en el tracto intestinal y en casos muy graves, edema cerebral y la muerte.²²

2.4.5. Niveles tóxicos de los glicoalcaloides

No existe legislación del contenido de glicoalcaloides, pero si un gran número de publicaciones donde se realizan estudios de sus efectos, así como las dosis que producen intoxicaciones. A nivel internacional, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) junto con la Organización Mundial de la Salud (OMS) establecen en 1992 un valor de ingesta diaria aceptable de valores no tóxicos entre 2-10 mg de glicoalcaloides por 100 gramos de peso fresco de patata de consumo humano.

Generalmente, es conveniente indicar que la cantidad en la que se van a encontrar: Siendo de 10-130 mg/kg valores normales, de 140-150 mg/kg, se detectan sabores amargos por los que nuestro organismo rechaza su ingesta y niveles superiores a 200 mg/kg se consideran peligrosos para el ser humano.²²

2.5. Evaluación de la actividad biológica

Los bioensayos son pruebas en las que se usan organismos vivos para detectar o medir la presencia y efectos de una o más sustancias tóxicas, así como determinar el límite de tolerancia de los organismos a dichas sustancias. Los ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas. Para la evaluación de la actividad biológica se pueden tomar en cuenta los siguientes parámetros: Mortalidad, Proporción de crecimiento, biomasa, reproducción, estimulación o inhibición de sistemas metabólicos o enzimáticos, cambios de conducta, histopatológica, nutrición entre otros.¹⁹

2.5.2. Evaluación de la actividad biológica con *Artemia salina*

El bioensayo de letalidad frente a *Artemia salina* es uno de los biomodelos más usados en las etapas preliminares de una investigación fitoquímica. El procedimiento consiste en exponer compuestos activos y/o extractos de plantas a nauplios de *A. salina*, para determinar valores de concentración letal media (CL₅₀), expresada en µg/ml, la toxicidad se puede clasificar según los rangos de CL₅₀ presentados en la tabla 1. Sin embargo el CL₅₀ no advierte de una actividad fisiológica o biológica en particular; es un indicador de toxicidad a nivel celular que puede orientar investigaciones más específicas.²⁰

Tabla 1. Clasificación de toxicidad según CYTED.²⁰

I	Extremadamente tóxico	0-10	µg/ml
II	Altamente tóxico	10-100	µg/ml
III	Moderadamente tóxico	100-500	µg/ml
IV	Ligeramente tóxico	500-1000	µg/ml
V	Prácticamente no tóxico	1000-1500	µg/ml
VI	Relativamente inocuo	<1500	µg/ml

Fuente: Sarasa K. *et al.* Estudio de la actividad larvicida frente a *Artemia salina* (Artemiidae) e insecticida sobre *Corythucha gossypii* (Tingidae) del extracto etanolico de semillas de *Annona reticulata* (Annonaceae). 2015.

2.5.3. Aspectos biológicos generales

Como se observa en la figura 3 la *Artemia salina* son camarones minúsculos de cuerpo blando, de color carmelita y transparente a la luz; pertenecen al *Phylum Arthropoda*, clase *Crustaceae*, subclase *Branchiopoda*. Se conocen comúnmente por el nombre de artemia, también llamados “monos de mar” o “brine shrimp” en inglés. Estas especies se encuentran distribuidas en todo el mundo en aguas de elevada salinidad, pueden crecer a temperaturas entre 6 y 35°C. Se alimentan de algas y bacterias.¹⁷ Las hembras producen huevos que, en condiciones externas favorables, eclosionan produciendo larvas de un tamaño aproximado de 1 mm, se convierten en adultos transcurridas 6 a 8 semanas, alcanzando un tamaño promedio de 7mm. Se han vuelto muy importantes para este tipo de investigaciones debido a que no hay necesidad de mantener una colonia viva permanentemente, las pruebas pueden realizarse dónde y cuándo sea necesario y se dispone siempre de un número suficiente de individuos de la misma edad y condición fisiológica.²⁰

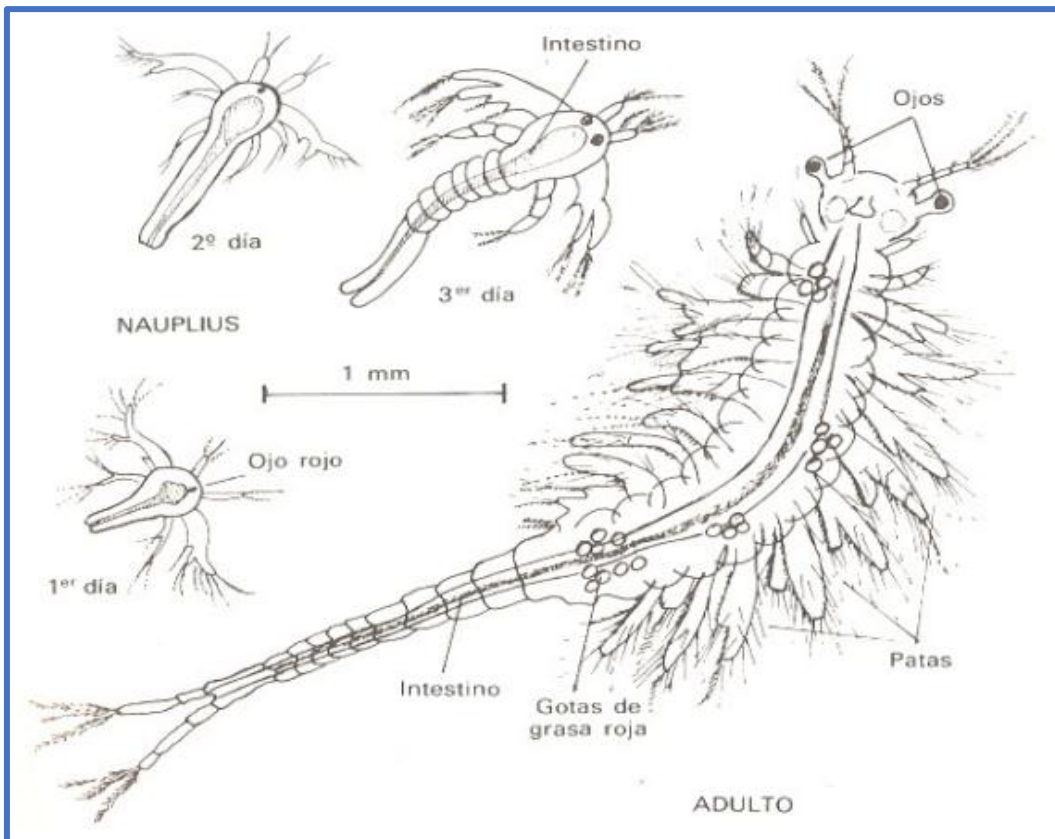


Figura 3. Metamorfosis de la *Artemia salina*.

Fuente: Ortuño B.L. *et al.* Ejecución de bioensayos y asistencia en estudios de impacto ambiental. 2009.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Tipo de investigación

Básico descriptivo

3.2. Definición de la población y muestra

3.2.1. Población

Hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” que crecen en el distrito de Carmen Alto, provincia de Huamanga, región Ayacucho.

Hojas y frutos de *Solanum radicans* L. “ñuchku” que crecen en distrito de Jesús de Nazareno, provincia de Huamanga, región Ayacucho.

3.2.2. Muestra

Está constituida por 250 g de hojas y 250 g de frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L. que se obtuvo por muestreo no probabilístico o por conveniencia

3.2.3. Unidad de análisis

Extractos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L.

3.3. Metodología y recolección de datos

3.3.1. Recolección y secado de las muestras

La parte de las plantas fueron las hojas y frutos recolectados en el mes de marzo. Se seleccionaron las hojas y frutos verdes. Las hojas se lavaron con abundante agua, se extendieron en bandejas perforadas para ser secados a la sombra a temperatura ambiente y volteados diariamente durante siete días, en una habitación ventilada. Los frutos son reducidos a láminas finas y secados en estufa a 40°C, durante tres días, hasta sequedad. Transcurrido ese tiempo se pulverizaron las hojas y frutos, hasta polvo fino con ayuda de una licuadora.

3.3.2. Extracción y cuantificación de glicoalcaloides esteroideos totales.

Se siguió los procedimientos descritos por Peña.¹⁵

a. Extracción

Se pesaron 5 g de muestra, la cual se hidrato con 20 mL de agua destilada durante una hora. Luego se preparó 210 mL de mezcla extractora etanol:

cloroformo (2:1 v/v), y se adicionó 100 mL de esta a la muestra hidratada, agitándose durante 30 minutos a baja velocidad. Posteriormente, se filtró la mezcla en un embudo de Buchner al vacío utilizando papel de filtro Whatman N°40, extrayéndose nuevamente el residuo con 210 mL de mezcla extractora por tres veces. En cada filtrada se lavó el agitador y los filtros con la mezcla Etanol/Cloroformo restante. La solución filtrada se llevó a un rotavapor marca Buchi R-300 a 60°C concentrándose hasta alcanzar un volumen de aproximadamente 20 mL. Paso seguido, la solución acuosa se transfirió a una pera de decantación donde se agregó 20 mL de solución de ácido acético (agua : ác. acético glacial, 98:2, v/v) y 15 mL de éter de petróleo, fracción 40 - 60, se agitó vigorosamente y se lavó varias veces con éter de petróleo hasta no evidenciar la coloración verde característica de la clorofila.

A continuación, se separó y se filtró la fase acuosa con papel de filtro Whatman N°40, la cual se transfirió a una fiola de 50 mL y se enrazó con la mezcla de agua – ácido acético (98 : 2 v/v). Esta solución se colocó en frasco de vidrio de color ámbar y se almacena en refrigeración. Del extracto se tomó una alícuota de 5 mL y se colocó en un vaso precipitado de 50 mL donde se le adicionó gota a gota hidróxido de amonio concentrado hasta un pH de 9, colocándose luego el Erlenmeyer en baño María marca Memmert a 85°C por 10 minutos y se enfría a 5°C por 30 minutos, donde los glicoalcaloides son floculados. Finalmente, se centrifugó el contenido del Erlenmeyer a 2500 rpm por 40 minutos, y luego se descartó el sobrenadante, se secó el precipitado y se guardó en un frasco de color ámbar bajo refrigeración.

b. Pruebas cualitativas preliminares

La identificación cualitativa de los glicoalcaloides esteroideos totales se realizó haciendo con los reactivos de Dragendorff, Wagner, Mayer y Hager .⁵

c. Cuantificación espectrofotométrica de glicoalcaloides esteroideos totales, expresados como α – solanina.

Preparación de curva de la curva de calibración

Se disolvió 2 mg de α -solanina (Sigma Aldrich) en 2 mL de ácido orto-fosfórico (puro) luego se enrazó a 10 mL. A Partir de esta solución stock se preparó las siguientes concentraciones: 20 $\mu\text{g/mL}$, 40 $\mu\text{g/mL}$, 60 $\mu\text{g/mL}$ y 80 $\mu\text{g/mL}$ transfiriendo a cada uno 0,5 mL, 1,0 mL, 1,5 mL y 2,0 mL respectivamente, que se enrazó con el mismo ácido orto –fosfórico a 5 mL. Seguidamente, se realizó las lecturas de las absorbancias a 408 nm en el Espectrofotómetro UV – Visible

GENESYS 6, se utilizó como blanco el ácido orto – fosfórico¹⁵.

Preparación de la muestra

Se hizo 3 repeticiones para cada muestra, los glicoalcaloides esteroidales totales obtenidos por precipitación son disueltos en 5 mL de ácido orto – fosfórico utilizando un Vortex VELP, se realizó la lectura en el Espectrofotómetro UV – Visible GENESYS 6. a una longitud de onda de 408 nm, utilizando como blanco el ácido orto – fosfórico. Los miligramos de alcaloides equivalente de solanina (mgA_{ES}) de glicoalcaloides esteroidales totales se determinaron por extrapolación de la absorbancia en la ecuación de la curva de calibración.

Los alcaloides totales extraídos fueron calculados de la siguiente relación matemática.

$$mg A_{ES}/g = \frac{mg \text{ de alcaloides totales}}{5 \text{ g de muestra}}$$

A_{ES} : Alcaloide equivalente de solanina

3.4. Bioensayo de toxicidad en *Artemia salina* (CYTED, 1995)

Método: El bioensayo con *Artemia salina* es un modelo que permite determinar citotoxicidad en la larva de este crustáceo que es altamente sensible a una gran variedad de sustancias químicas. La toxicidad se expresa como CL_{50} (concentración letal 50).

Día 1:

Se preparó agua salina al 3,8% según las instrucciones (3,8 g de sal de mar comercial en 100mL de agua destilada, lo cual tiene una semejanza de salinidad de agua de mar). Se colocó aproximadamente 50 mg de huevos de *Artemia salina* en un erlenmeyer con 350 mL de agua salina al 3.8%. Se colocó en un lugar con luz (artificial o natural). Se les colocó una bomba de oxígeno con burbujeo lento.

Día 2:

Se transfirió la mayor cantidad de nauplios vivos a un Erlenmeyer con agua salina al 3,8% fresca.

Día 3:

Se pesó 20 mg de muestra y luego se disolvió en 2 mL de disolvente: 0,5 mL en dimetil sulfóxido (DMSO) en y en 1,5 mL de agua destilada.

A partir de esta solución se preparó diluciones de 1000, 100 y 10 ppm, transfiriendo a cada vial 500, 50 y 5 μ L respectivamente. Son 3 viales por cada

concentración (9 en total). Se hizo un control por cada muestra.

Los nauplios estaron listos para el ensayo.

A cada vial se le agregó 10 nauplios (10 nauplios por dilución) y la dilución del extracto requerida. Luego se agregó agua salina al 3,8% hasta completar 5 mL por vial. A cada vial se agregó además una gota de suspensión de levadura (3 mg de levadura seca se disuelven en 5ml de agua de mar) como alimento.

Día 4:

Después de 24 horas, se contó y anoto el número de sobrevivientes en cada dilución.

3.6. ANÁLISIS DE DATOS

Análisis descriptivo con representaciones de medidas de tendencia central y de distribución de las cantidades de glicoalcaloides totales (mgA_{ES}) determinados. Fueron procesados y analizados en el programa estadístico SPSS.v22.

Los datos de la bioactividad en *Artemia salina* son analizados en software para cálculo de Concentración letal (CL_{50}) PROBITS.

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Identificación cualitativa de los glicoalcaloides esteroidales en hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L. Ayacucho 2017.

		Especie			
Compuesto	Reacciones	<i>S. hispidum</i> (frutos)	<i>S. hispidum</i> (hojas)	<i>S. radicans</i> (frutos)	<i>S. radicans</i> (hojas)
Alcaloides	Dragendorff	+++	++	++	+++
	Wagner	+++	++	++	+++
	Mayer	+++	++	++	+++
	Hager	+++	++	++	+++

LEYENDA:

(+) : Escaso
 (++) : Moderada
 (+++) : Abundante

Tabla 3. Alcaloide equivalente de solanina en hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L. de alcaloides totales extraídos. Ayacucho 2017.

Especie	Contenido
	mg A _{ES} /g
<i>S. hispidum</i> Pers. (frutos)	3,58±0,09 ^b
<i>S. hispidum</i> Pers. (hojas)	0,95±0,01 ^a
<i>S. radicans</i> L. (frutos)	3,72±0,01 ^c
<i>S. radicans</i> L. (hojas)	3,63±0,01 ^{b,c}

A_{ES}: Alcaloide equivalente de solanina

ANOVA: p=2,785E-12

Tabla 4. Concentración letal media (CL₅₀) de los extractos de hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L frente a los nauplios de *Artemia salina*. Ayacucho 2017.

Especie		Concentración ug/mL	Muertos	Vivos	Mortalidad (%)	CL ₅₀ ug/mL	Categoría
<i>Solanum</i>		1000	30	0	100	10,42	Altamente tóxico
<i>hispidum</i>	Hojas	100	27	3	90		
Pers.		10	15	15	50		
“ñahui		1000	30	0	100	11,47	Altamente tóxico
toqyachi”	Frutos	100	24	6	80		
		10	15	15	50		
<i>Solanum</i>		1000	30	0	100	14,67	Altamente tóxico
<i>radicans</i>	Hojas	100	27	3	90		
L.		10	12	18	40		
“ñuchku”		1000	30	0	100	6,40	Extremadamente tóxico
	Frutos	100	27	3	90		
		10	18	12	60		

V. DISCUSIÓN

En la presente investigación se realizó la cuantificación espectrofotométrica de los glicoalcaloides totales aislados de hojas y frutos de *S. hispidum* Pers. y *S. radicans* L. y su bioactividad frente a *Artemia salina*.

Se utilizó una extracción ácida de los alcaloides, la misma que se encuentra ampliamente citada en la literatura científica.³⁵ En este caso particular se utilizó la metodología descrita por Peña (2011), quién utilizó una extracción líquido – líquido con etanol: cloroformo (2:1), es decir, un solvente polar como el etanol y un solvente de baja polaridad como es el cloroformo. La literatura refiere que los glicoalcaloides esteroidales totales son solubles en soluciones acuosas ácidas y disolventes orgánicos polares, incluyendo acetonitrilo, metanol, etanol, y propanol.⁵

Los glicoalcaloides presentes en el género *Solanum* son glicosilados. La adición de ácido acético glacial al 2%, permitió recuperar el alcaloide en su forma libre o como una sal, es decir, como acetato de alcaloide esteroideal, conjuntamente con pigmentos, grasas entre otros compuestos. Para eliminar dichos compuestos que pueden interferir en la cuantificación de alcaloides, se utilizó el éter de petróleo hasta la decoloración total, que indicó la eliminación de los pigmentos, principalmente la clorofila. Éter de petróleo, tiene como finalidad de eliminar grasas, ceras, pigmentos y otros metabolitos que pudieran interferir con la extracción.²⁵ La precipitación de los alcaloides, se realizó por gradiente de pH, para el cual se utilizó el amoníaco hasta pH 9, formándose un floculado que fue recuperado por centrifugación.

En la tabla 2, se muestran los resultados de los ensayos para la identificación de glicoalcaloides esteroidales totales, dando positivo las pruebas de Dragendorff, Wagner, Mayer y Hager (Anexo 12), donde el precipitado se muestra con abundancia en *S. hispidum* Pers. en frutos y *S. radicans* L. en hojas y en *S. radicans* L. en frutos y *S. hispidum* hojas ambos se muestra el precipitado

moderadamente. Asimismo, se realizó un barrido con el espectrofotómetro ultravioleta de los alcaloides aislados de ambas especies, observándose un pico característico a 408 nm, el mismo que coincidió con el estándar α -solanina (Anexo 14, 15 y 16). Por tanto, podemos afirmar que se logró aislar los alcaloides en ambas especies, que fueron corroborados por pruebas químicas y espectrales.⁵

Previo a la cuantificación espectrofotométrica se elaboró una curva de calibración con el estándar α -solanina (Anexo 20), con un $R^2 = 0,9997$ que indica la linealidad de la curva de calibración. Asimismo, se realizó el test de proporcionalidad para verificar la linealidad de la curva de calibración mostrando un coeficiente de variación de 0,70% (Anexo 19).

En la tabla 3 se observa contenido de glicoalcaloides esteroidales totales aislados de hojas y frutos de *S. hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” y *S. radicans* L. “ñuchku” de las cuatro muestras estudiadas quienes reportaron un valor que varío de 0,95 a 3,72 mgA_{ES}/g. Para el *S. hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” en fruto da una cantidad 3,58 mgA_{ES}/g, el cual indica que presenta mayor cantidad de glicoalcaloides esteroidales totales comparado con las hojas el cual fue 0,95 mgA_{ES}/g. Así mismo los resultados obtenidos para el *Solanum radicans* L. “ñuchku” en fruto fueron 3,72 mgA_{ES}/g, el cual fue mayor comparado con las hojas que fue 3,63 mgA_{ES}/g.

Del análisis estadístico (Anexo 21), se demuestra que hay diferencia significativa ($p=2,785E-12$) en los cuatro muestras estudiadas del género *Solanum*.

La cantidad de glicoalcaloides esteroidales totales de *S. hispidum* Pers. (frutos) es estadísticamente similar ($p=0,127$) a la cantidad de *S. radicans* L. (hojas). Mientras en *S. radicans* L en hojas y frutos la cantidad de glicoalcaloides esteroidales totales estadísticamente son similares ($p=0,127$) fueron evaluadas mediante prueba de comparaciones múltiples HSD de Tukey (Anexo 22).

Las hojas y los frutos (sobre todo los inmaduros) de casi todas las especies de las solanáceas contienen glicoalcaloides (o alcaloides glicosílicos) en especial los esteroides α -solanina y α -chaconina con importancia toxicológica probada (actividades anticolinesterásicas y hemolíticas en especial)¹², pero la concentración y la cantidad absoluta disminuye en todas las fases de desarrollo con el incremento de la edad de las plantas³⁴, donde los resultados que se pudo observar en *S. hispidum* Pers. hojas es menor la cantidad de glicoalcaloides que los demás muestras, esto sucedió en la recolección de muestra donde las hojas eran maduras la gran mayoría.

En otras especies estudiadas como *S. habrochaites* el contenido de glicoalcaloides fue de 11,212 mgA_{ES}/g en hojas secas⁵, en diez muestras estudiadas del tubérculo de *S. tuberosum* se reportó el rango de 0,004 a 0,052 mgA_{ES}/g²² y en *S. melongena* L. “berenjena” un contenido de 0,53 mgA_{ES}/g en cascara secas²⁶. La variabilidad del contenido de glicoalcaloides, pueden deberse a la procedencia de las especies, estado vegetativo, época de colecta, así como, si son especies cultivadas o silvestres, siendo estas últimas las que muestran mayor contenido de glicoalcaloides. Podría justificarse que las especies silvestres tienen un mayor contenido de glicoalcaloides, debido a que se encuentran expuestas a entorno adversos como los factores ambientales y tienen que hacer frente a los depredadores, por lo que, se ven obligados a producir una mayor cantidad de metabolitos secundarios para hacerles frente, sobre todo en la fase vegetativa de desarrollo de la especie vegetal. Cabe recalcar también, que como mecanismo adaptivo las especies silvestres generan mayor concentración de glicoalcaloides esteroidales debido a factores genéticos.²² *S. habrochaites* es una especie silvestre del género *Solanum* con un alto contenido de glicoalcaloides, mientras que las especies cultivadas *S. tuberosum* y *S. melongena* tienen menor contenido de glicoalcaloides.

Esto indica que las plantas, especialmente sus hojas y frutos, pueden ser una materia prima importante. La importancia de esas sustancias yace en su potencial uso como materias primas para la producción industrial de hormonas esteroidales.³²

Se evaluó la bioactividad de los extractos de hojas y frutos de *S. hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” y *S. radicans* L. “ñuchku”, frente a los nauplios de *Artemia salina*.

Este método permite aclarar que el método de *Artemia salina* no sirve para identificar el tipo de actividad farmacológica que presente cualquier sustancia o extracto sujeta a estudio, pero si nos informa si existe o no actividad, por lo cual es conveniente utilizarlo como ensayo preliminar en una batería de pruebas farmacológicas.²⁹

En la tabla 3 se muestra el porcentaje de mortalidad de los nauplios de *Artemia salina* a diferentes concentraciones (1000, 100, 10 µg/mL) de los glicoalcaloides de *S. hispidum* y *S. radicans*. Todas las plantas estudiadas presentaron una tasa de mortalidad de 100% a la concentración más alta ensayada (1000 µg/mL), a concentración (100 µg/mL) vario de 80% a 90%, y de 40% y 60% a la concentración (10 µg/mL).

Como se puede apreciar la mayoría de las muestras estudiadas se ubicaron en los intervalos de la CL_{50} comprendidos entre 10-100 $\mu\text{g/mL}$ y una muestra menor de 10 $\mu\text{g/mL}$ lo cual indica la apreciable actividad de dichas plantas sobre el camarón. Además, *S. radicans* L. (frutos) mostro la CL_{50} más baja o citotoxicidad extremadamente toxico mientras en *S. radicans* L. (hojas) y *S. hispidum* Pers. (hojas y frutos) exhibió una citotoxicidad altamente toxico. La categoría de toxicidad fue designada según la clasificación de CYTED (1995); sin embargo, en software PROBITS, una concentración letal (CL_{50}) basada en la toxicidad de sustancias para las larvas de *A. salina* < 500 $\mu\text{g/mL}$ indica toxicidad alta, por lo que todos los extractos de las plantas evaluadas se consideraron tóxicos. El porcentaje de mortalidad de los extractos y su citotoxicidad fue dependiente de la concentración.

Tabla 3 también la actividad citotóxica (CL_{50}) se evidencio en el siguiente orden: *S. radicans* L. frutos (CL_{50} =6,40 $\mu\text{g/mL}$)> *S. hispidum* Pers. hojas (CL_{50} =10,42 $\mu\text{g/mL}$)> *S. hispidum* Pers. frutos (CL_{50} =11,47 $\mu\text{g/mL}$)> *S. radicans* L. (CL_{50} =14,67 $\mu\text{g/mL}$) (anexo 25, 26, 27 y 28). También se puede decir que otras especies de *Solanum* si muestra la actividad citotóxica *S. nigrum* con un valor de (CL_{50} =22 $\mu\text{g/mL}$)²⁹, *S. lycocarpum* con un valor de (CL_{50} =285,546 $\mu\text{g/mL}$)³⁰, Los extractos de los frutos de *S. asperum* (CL_{50} =420,5 $\mu\text{g/ml}$) y *S. palisotum* (CL_{50} = 548,0 $\mu\text{g/ml}$), partes aéreas de *S. diamantinense* (CL_{50} = 481,0 $\mu\text{g/ml}$) (CL_{50} = 382,7 $\mu\text{g/mL}$), y de las raíces *S. asperum* (CL_{50} = 593,4 $\mu\text{g/ml}$) y *S. stipulaceum* (CL_{50} =823,1 $\mu\text{g/ml}$) mostraron actividad;³¹ por lo tanto se puede decir la gran mayoría de la familia solanaceae presentan bioactividad frente a *Artemia salina*. Los glicoalcaloides de *S. asperum* mostró una actividad contra cuatro especies de hongos filamentosos de los géneros *Microsporum canis*, *M. gypseum* *Trichophyton rubrum* y *T. mentagrophytes*.²⁷

Los alcaloides de *S. multifidum* Lam. presenta actividad antinociceptiva,. Asimismo, inhibieron el crecimiento de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25992), y *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 27853), mostrando mayor bioactividad frente a *Staphylococcus aureus*.²⁸

Los compuestos de *Solanum habrochaites* que contiene glicoalcaloides esteroidales totales, tienen actividad antimicrobiana frente *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* respectivamente.⁵

Estos glicoalcaloides demuestran efectos antitumorales marcados en varias líneas de células tumorales, células cancerosas como HepG2 ³⁴.

Los principios activos de las familias Solanaceae, con alcaloides y glucósidos esteroideos, tienen potencial para ser utilizados en el control y manejo de insectos plaga.³³

Esta bioactividad puede ser explicada debido a la presencia de glicoalcaloides esteroidales en los géneros estudiados, los cuales poseen actividades anticolinesterásicas y citotóxicas, que provocan la lisis de la membrana celular de los microorganismos. Así mismo, afirman que los glicoalcaloides esteroidales, al contar con los esteroides dentro de su estructura, pueden interrumpir la actividad de las membranas bacteriales.²¹

Los experimentos mostraron la presencia de glicoalcaloides esteroidales totales en hojas y frutos inmaduros por los resultados obtenidos, también se ha demostrado que en las condiciones experimentales de *S. hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” y *S. radicans* L. “ñuchku” presenta bioactividad frente a *Artemia salina*.

VI. CONCLUSIONES

- Se identificó la presencia de glicoalcaloides esteroidales totales en los extractos obtenidos en hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L., los cuales se evidenciaron con el reactivo de Dragendorff, Wagner, Mayer, Hager y barrido con el espectrofotómetro UV.
- Se cuantificó el contenido de glicoalcaloides esteroidales totales en hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. siendo de 0,94 y 3,54 mgA_{ES}/g y *Solanum radicans* L. 3.63 y 3,71 mgA_{ES}/g.
- Los glicoalcaloides esteroidales totales en hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L., presentó bioactividad frente a *Artemia salina* siendo la CL₅₀ de *S. hispidum* Pers. hojas 10,42 y frutos 11,47 µg/mL y en *S. radicans* L. en hojas 14,67 y frutos 6,39 µg/mL.

VII. RECOMENDACIONES

- Caracterizar mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) el contenido de glicoalcaloides esteroidales totales en hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L.
- Se recomienda a la población que no está en contacto o ingerir las especies *Solanum hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” y *Solanum radicans* L “ñuchku” en hojas y frutos inmaduros por que contienen niveles altos glicoalcaloides que pueden representar una intoxicación.
- Realizar pruebas farmacológicas con glicoalcaloides esteroidales de *Solanum hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” y *Solanum radicans* L “ñuchku”.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Knapp S, Spooner DM, León B. Solanaceae endémicas del Perú. Rev. Perú Biol [Revista en internet]. 2006 [citado 8 de Abril de 2017]; 13(2):612-643s. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/view/1918>
2. Lock De Ugaz O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2da edición. Lima: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
3. Towell JL. Una Semblanza de las Solanaceae. Etnobiología [Revista en internet]. 26 de Diciembre de 2015 [citado 8 de Abril de 2017]; 1(1): 17-23. Disponible en: <http://asociacionetnobiologica.org.mx/revista/index.php/etno/article/view/74>
4. Sánchez M, Yokoyama WE, Hong Y-J, Prohens J. α -Solasonine and α -Solamargine Contents of Gboma (*Solanum macrocarpon* L.) and Scarlet (*Solanum aethiopicum* L.) Eggplants. J Agric Food Chem [Revista en Internet]. 12 de mayo de 2010 [citado 9 de Abril de 2017]; 58(9): 5502-8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/jf100709g>
5. Soto M, Soto K. Cuantificación de glicoalcaloides esteroidales totales de las hojas de *Solanum habrochaites* s. Knapp & d. m. Spooner (solanaceae) y su actividad antimicrobiana. ARNALDOA [Revista en internet]. 1 de septiembre de 2015 [citado 9 de Abril de 2017]; 22(1):105-18. Disponible en: <http://journal.upao.edu.pe/Arnaldoa/article/view/185>
6. Pérez M, Muñoz V, García JM, Gonzales AR. Alkaloids in *Solanum torvum* Sw (Solanaceae). Phyton B [Revista en internet]. 2007 [citado 8 de Abr de 2017]; Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/phyton/v76/v76a04.pdf>
7. Castillo J, Hurtado I, Chamorro A. Extracción y cuantificación del alcaloide esteroideal solasodina, de los frutos del *Solanum wrightii* Benth y el *Solanum pseudocapsicum* L. Ingenium [Revista en internet]. 30 de septiembre de 2012 [citado 8 de Abril de 2017]; 6(13): 57-62. Disponible en: <http://revistas.usc.edu.co/index.php/Ingenium/article/view/88>
8. Barahona E, Guevara B. Determinación de alcaloides esteroidales en extracto alcohólico del fruto del *Solanum mammosum* (chichigua) por cromatografía de capa fina [Tesis en internet] [bachelor]. Universidad de El Salvador; 2007 [citado 8 de Abril de 2017]. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/4567/>
9. Rodolfo V, Rosas B, Martinez C, Herrera S, Tapia A, Vega A. Efecto de *Solanum hispidum* sobre la proliferación de células hematopoyéticas *in vitro* e *in vivo*. Bioquímica [Revista en internet]. 2009 [Citado 9 de Abril de 2017]; 34 (SA): 77. Disponible en: <http://new.medigraphic.com/cgi-bin/resumen.cgi?IDARTICULO=19927>
10. Vieira P, Marinho L, Ferri S, Chen L. Protective effects of steroidal alkaloids isolated from *Solanum paniculatum* L. against mitomycin cytotoxic and genotoxic actions. An acad bras cienc. [Revista en internet]. Junio de 2013; 85(2): 553-60. [citado 8 de Abril de 2017]. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/aabc/v85n2/0001-3765-aabc-85-02-553.pdf>
11. González M, Zamilpa A, Marquina S, Navarro V, Alvarez L. Antimycotic Spirostanol Saponins from *Solanum hispidum* Leaves and Their Structure-Activity Relationships. J Nat Prod [Revista en internet]. 1 de junio de 2004 [citado 9 de Abril de 2017]; 67(6): 938-41. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/np0305019>
12. Olórtégui J, Brañez M. Evaluación de la actividad citotóxica y antimicrobiana de glicoalcaloides esteroidales de las hojas de *Solanum albidum* Dunal y

- Solanum oblongifolium* Dunal. Univ Nac Mayor San Marcos Programa Cybertesis PERÚ [Tes. en int.]. 2009 [Cit. 9 de Abr. De 2017]; Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/1632>
13. Milner S, Brunton N, Jones P, Brien N, Collins S, Maguire A. Bioactivities of Glycoalkaloids and Their Aglycones from Solanum Species. J Agric Food Chem [Revista en internet]. 27 de abril de 2011 [citado 9 de Abril de 2017]; 59(8): 3454-84. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/jf200439q>
 14. Wang H, Liu M, Hu X, Li M, Xiong X. Electrochemical Determination of Glycoalkaloids Using a Carbon Nanotubes-Phenylboronic Acid Modified Glassy Carbon Electrode. [Revista en internet]. 27 de noviembre de 2013 [citado 9 de Abril de 2017]; 13(12): 16234-44. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1424-8220/13/12/16234>
 15. Peña W. Evaluación del contenido de glicoalcaloides en el pelado, cocción y fritura de variedades de papa nativa. [Tesis en internet] 2011 [cit 9 de Abr de 2017]; Disponible en: <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/1376>
 16. Samanez D. Sensibilidad de bacterias enteropatógenas frente a extractos de *solanum radicans* L. "ñuchku". Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho _ Perú 2006.
 17. CYTED, 1995. Manual de técnicas de investigación. Revista Iberoamericana de Ciencia y Tecnología.
 18. Fernández C, Mendiola J, Monzote L, García M, Sariago I, Acuña D, Scull R, Gutiérrez Y. Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L. [Rev. en internet]. Sep.-dic. 2009-2011 [citado 11 de Abr de 2017]; disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttex&pid=S0375-0760200900030009
 19. Ortuño B, Rosa U, Guzmán A. Ejecución de bioensayos y asistencia en estudios de impacto ambiental. Educación en Ciencia y Tecnología del Mar. Guía de aprendizaje. 2009.
 20. Sarasa K, Burbano D. Estudio de la actividad larvicide frente a *Artemia salina* (Artemiidae) e insecticide sobre *Corythucha gossypii* (Tingidae) del extracto etanólico de semillas de *Annona reticulata* (Annonaceae). Edit. Pereira. Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia 2015
 21. Moreno C. Desarrollo y evaluación de un chocolate funcional incorporando dos tipos de extracto a dos concentraciones de dulcamara (*Solanum dulcamara* L.) edit. Zamorano. Escuela Agrícola Panamericana. 2009.
 22. Martín I. "Determinación de glicoalcaloides: α -solanina y α -chaconina en patata mediante cromatografía de líquidos de ultra presión acoplada a espectrometría de masas de triple cuadrupolo". Universidad de Almería. 2011.
 23. Jaramillo C, Jaramillo A, Armas H, Troccoli L, Rojas L. Concentraciones de alcaloides, glucósidos cianogénicos, polifenoles y saponinas en plantas medicinales seleccionadas en Ecuador y su relación con la toxicidad aguda contra *Artemia salina*. Rev. Biología tropical. 2016.
 24. Díaz G. Plantas tóxicas de importancia en salud y producción animal en Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Pag.197. Bogotá 2010.
 25. Enciso E, Arroyo J. Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matipo de puna) en un modelo experimental en ratas. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 2011

26. Vélez P. Aislamiento y caracterización de solanina por espectroscopía de infrarrojos en berenjena (*Solanum melongena* L.). Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito Ecuador 2014.
27. Pinto F, Uchoa D, Silveira E, Pessoa O, Braz R. Glicoalcaloides antifúngicos, flavonoides e outros constituintes químicos DE *Solanum asperum*. Artículo international year of chemistry. Universidad de Brasília. Brasil 2011.
28. Soto M. Antinociceptive and antibacterial activity of total alkaloids from two species of the Solanaceae family. Revista de Perú. Universidad Nacional de Trujillo. Perú 2014.
29. Salama A, Hinestrosa A, Chaves M. Fito y bioanálisis de algunas plantas utilizados en medicina popular con posible actividad farmacológica. Rev. colomb. cienc. quim. farm., Volumen 25, Número 1, p. 44-51, 1996.
30. Araújo M, Cunha W, Veneziani R. Estudo fitoquímico preliminar e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de extrato obtido de frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hill (Solanaceae). Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, Vol. 31, No 2 (2010)
31. Silva T, Nascimento R, Batista M, Agra M, Camara C, Bioatividade em *Artemia salina* de várias espécies de *Solanum* do Nordeste Brasileiro. Rev. bras. farmacogn. vol.17 no.1 João Pessoa Jan./Mar. 2007
32. Edmonds J, Chweya J. Black nightshade *Solanum nigrum* L. and related species. International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy. 1997.
33. Castillo L, Jimenez J, Delgado M. Metabolitos secundarios de las familias annonaceae, solanaceae y meliaceae usadas como control biológico de insectos. Tropical and subtropical Agroecosystems, 12 (2010): 445 -462
34. Ji Y, Gao S, Ji C, Zou X. Induction of apoptosis in HepG2 cells by solanine and Bcl-2 protein. *J Ethnopharmacol* 2008;115:194-202. Elatayeb E, Al – Ansari, Roddick J. Changes in the steroidal alkaloid solasodine during development of *Solanum nigrum* and *Solanum incanum*. *Phytochemistry*. Vol 46(3): 489 – 494.
35. Kuklinski C. Farmacognosia. Edición Omega s.a. Española 2003.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Certificado de identificación botánica de *Solanum hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” Ayacucho 2017.



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE
“SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA”

C E R T I F I C A

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Sr. Abidman, RETAMOZO MONTES**,
ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.
Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación
de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	SOLANALES
FAMILIA	:	SOLANACEAE
GENERO	:	Solanum
ESPECIE	:	<i>Solanum hispidum Pers.</i>
N.V.	:	“ñahui toqyachi”

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para
los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 24 de Enero del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Bla. Laura Rosalme Medina
JEFE

Anexo 2. Descripción botánica y hábitat de *Solanum hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” Ayacucho 2017.

Ñahuitoqyachi

Nombre Científico: *Solanum hispidum* Pers.

Familia *Solanaceae*

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA:

Planta subarborescente de 1.50 metros de alto aproximadamente, tallos algo retorcidos bastante ramificados desde la base, hojas simples, enteras de 14 – 20 cm. de largo, ovada lanceoladas, alternas, los tallos y peciolo de las hojas provistas de pequeñas espinas y densamente pubescentes, los pelos de un color marrón.

Inflorescencias cimosas, flores de 1.8 – 2.5 cm. de largo, heteroclamídeas, bisexuales y pentámeras, sépalos soldados en la base que terminan en 5 dientes en el ápice, pubescente al igual que las hojas, corola acampanada de un color azul violeta, formado por 5 pétalos soldados en la base y libres en la parte terminal, androceo formado por 5 estambres libres y gineceo de ovario súpero con un estilo que termina en un estigma capitado.

Fruto baya ovoide de aproximadamente 2 cm de diámetro, verdes cuando están inmaduros y amarillento al madurar.

HABITAT:

Crece en forma silvestre entre los 2700 a 3200 msnm. en lugares secos, al borde de caminos, terrenos abandonados,

Su propagación se lleva a cabo mediante semillas.

Ayacucho, 29 de Enero del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
MERCEDES HUAMANGA

Bga. Laura Rucelene Medina
JEFE

Anexo 3. Certificado de identificación botánica de *Solanum radicans* L. "ñuchku"
Ayacucho 2017



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE
"SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA"

C E R T I F I C A

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Sr. Abidman, RETAMOZO MONTES**,
ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.
Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación
de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	SOLANALES
FAMILIA	:	SOLANACEAE
GENERO	:	Solanum
ESPECIE	:	<i>Solanum radicans</i> L.f.
N.V.	:	"ñuchcu"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para
los fines que estime conveniente.

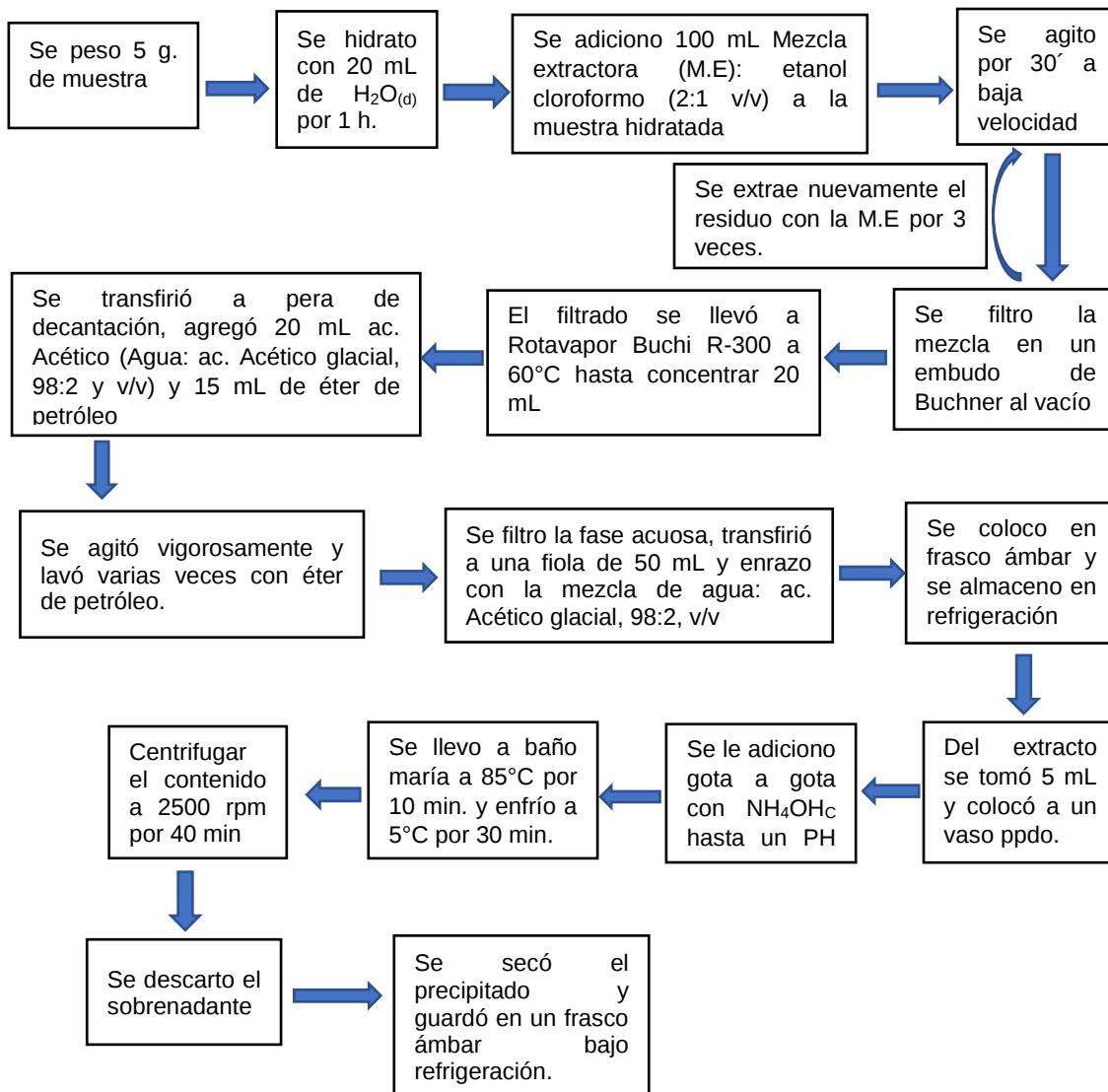
Ayacucho, 04 de Abril del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

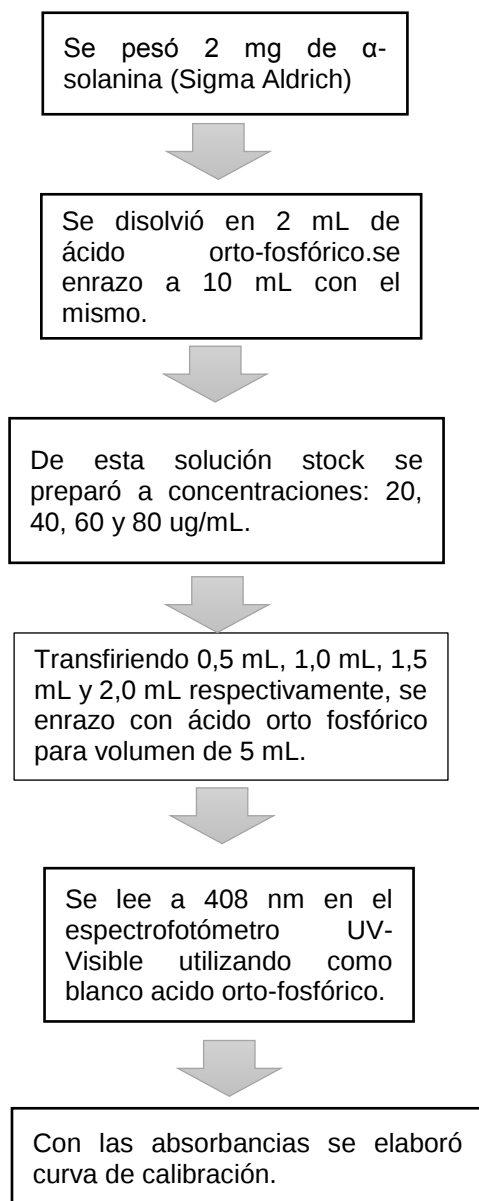
Blga. Laura Arcobello Medina
JEFE

Anexo 4. Flujograma del procedimiento para la extracción de glicoalcaloides esteroideos totales de hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L. Ayacucho 2017.

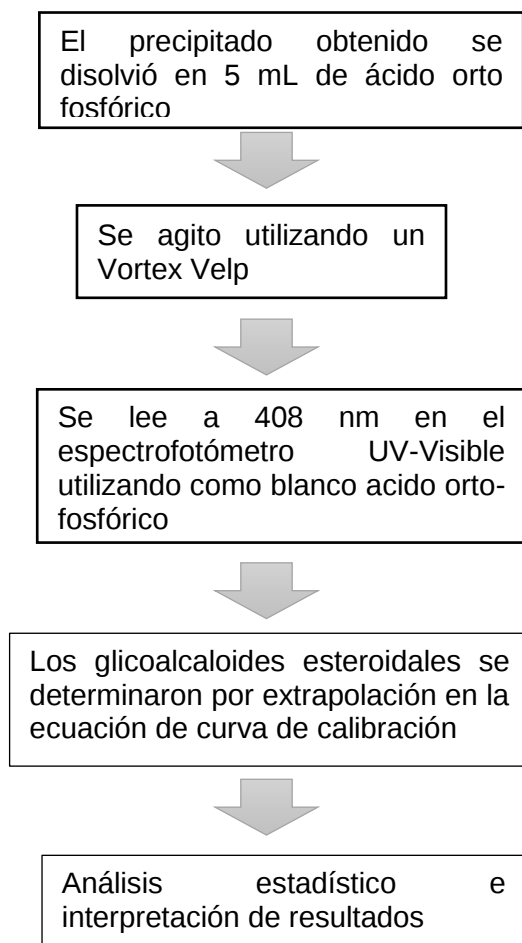
Extracción:



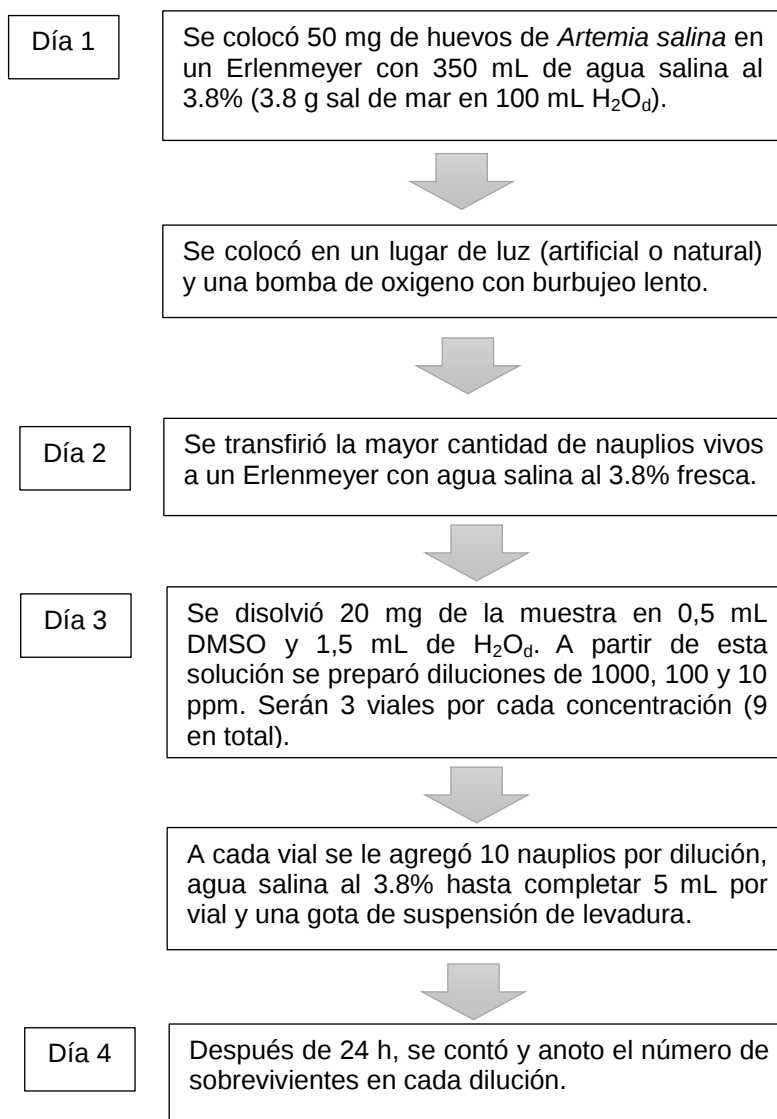
Anexo 5. Flujograma del procedimiento para la curva de calibración de glicoalcaloides esteroidales totales de α -solanina Ayacucho 2017.



Anexo 6. Flujograma del procedimiento de cuantificación espectrofotométrica de glicoalcaloides esteroidales totales de hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. y *Solanum radicans* L. Ayacucho 2017.



Anexo 7. Flujograma del procedimiento de bioensayo de toxicidad en *Artemia salina*. Ayacucho 2017.



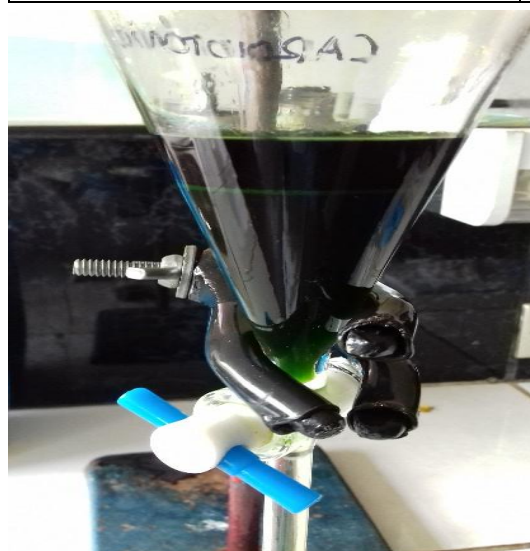
Anexo 8. Hojas y frutos recolectados de *Solanum hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” y *Solanum radicans* L. “ñuchku”. Ayacucho 2017.

<i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi”	
Hojas	Fruto verde
	
<i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku”	
Hojas	Fruto verde



Anexo 9. Desengrasado y despigmentado con éter de petróleo el extracto acuoso ácido de hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” y *Solanum radicans* L. “ñuchku” en el laboratorio de Farmacognosia Ayacucho 2017.

<i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi”	
Hojas	Fruto
	

<i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku”	
Hojas	Fruto
	

Anexo 10. Extractos de hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” y *Solanum radicans* L. “ñuchku” en el laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.

Fruto	Hojas	Fruto	Hojas
<i>Solanum radicans</i> L. “ñuchku”		<i>Solanum hispidum</i> Pers. “ñahui toqyachi”	

Anexo 11. Precipitado obtenido de hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” y *Solanum radicans* L. “ñuchku” en el laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.



Se tomó 5 ml de cada extracto y luego se lleva a PH 9 con $\text{NH}_4\text{OH}_\text{C}$



Se lleva a baño María a 85°C por 10 minutos



Se enfría a 5°C por 30 minutos

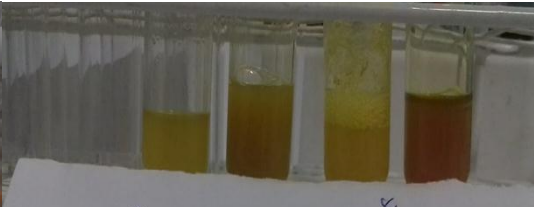


Se centrifugó a 1500 rpm por 40 minutos

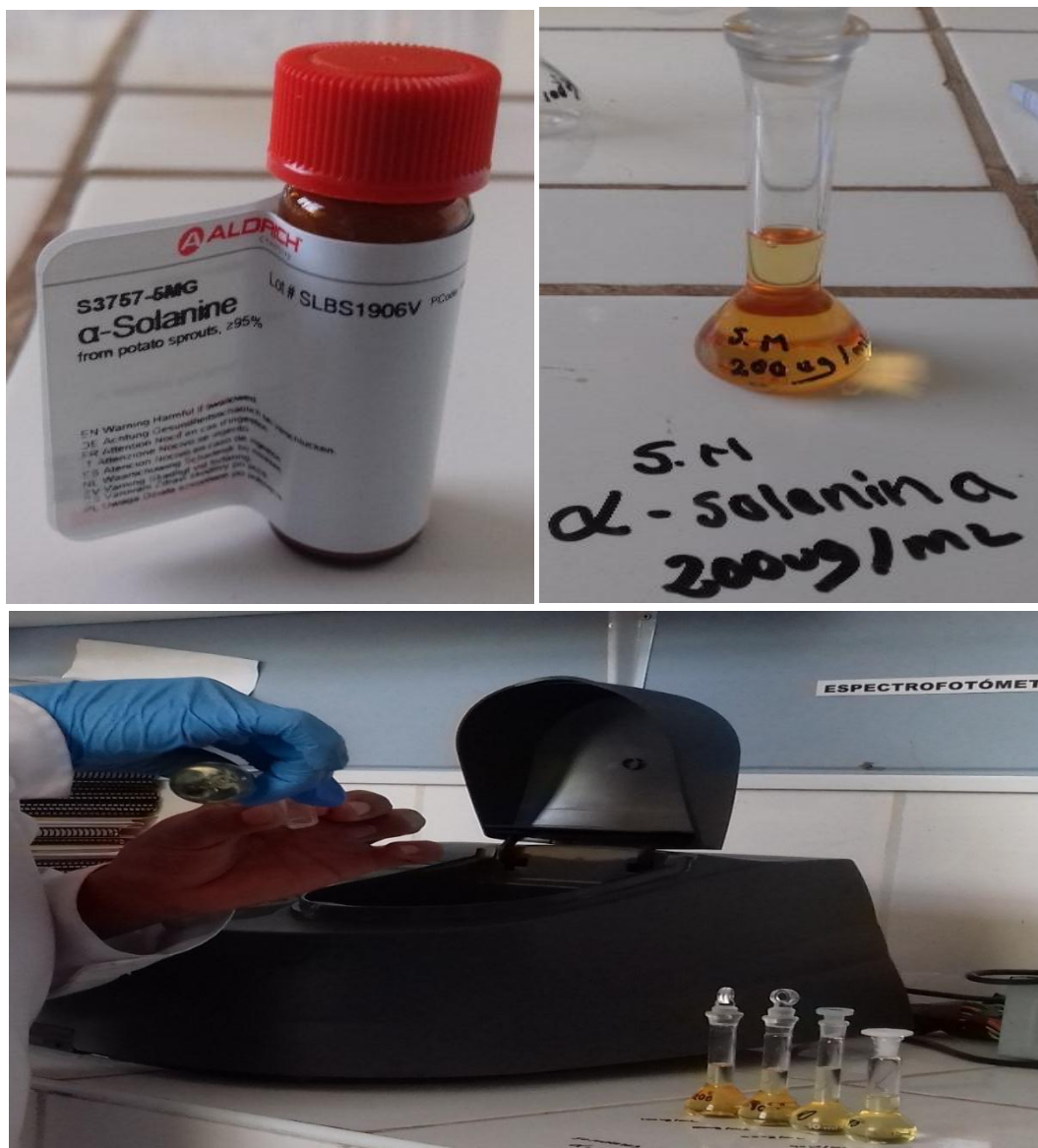


Se descartó el sobrenadante el precipitado se seca y se guarda en frasco ámbar bajo refrigeración

Anexo 12. Identificación de glicoalcaloides esteroidales totales hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” y *Solanum radicans* L. “ñuchku” en el laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.

 ÑUCHKU FRUTO VERDE ÑUCHKU HOJAS ÑAHUI TOQYACHI FRUTO VERDE ÑAHUI TOQYACHI HOJAS	 ÑUCHKU FRUTO VERDE ÑUCHKU HOJAS ÑAHUI TOQYACHI FRUTO VERDE ÑAHUI TOQYACHI HOJAS
Reactivo Mayer	Reactivo Dragendorff
 ÑUCHKU FRUTO VERDE ÑUCHKU HOJAS ÑAHUI TOQYACHI FRUTO VERDE ÑAHUI TOQYACHI HOJAS	 ÑUCHKU FRUTO VERDE ÑUCHKU HOJAS ÑAHUI TOQYACHI FRUTO VERDE ÑAHUI TOQYACHI HOJAS
Reactivo Wagner	Reactivo Hager

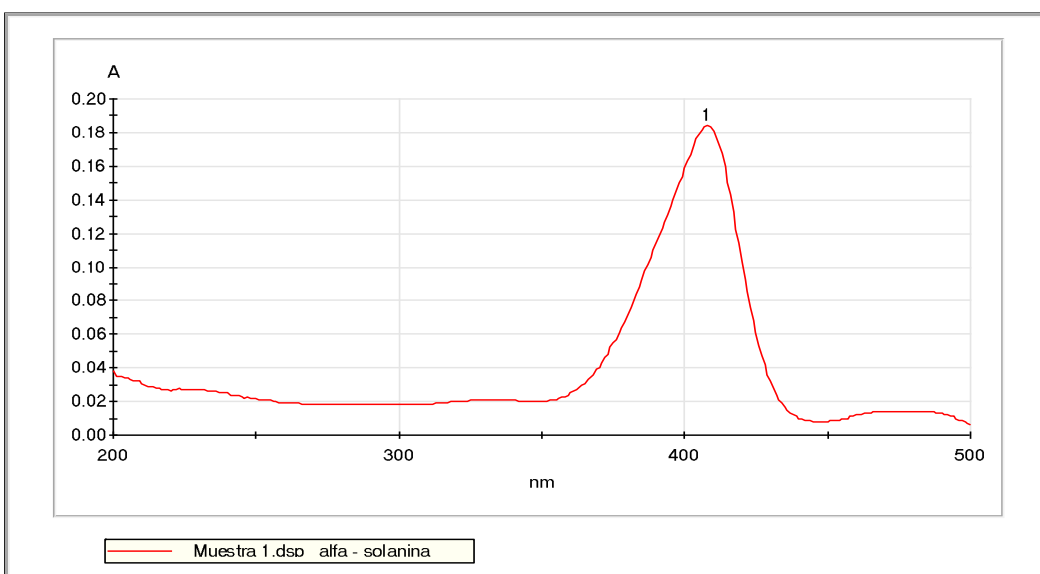
Anexo 13. Lectura de las absorbancias del estándar en el espectrofotómetro UV y de los extractos hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” y *Solanum radicans* L. “ñuchku” en el laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.



Lectura de las soluciones y extractos de hojas y frutos a 408 nm.

Anexo 14. Barrido espectral de α -solanina en laboratorio de Farmacognosia.
Ayacucho 2017.

Spectrum: Muestra 1.dsp
Description: alfa - solanina
Operator: user/FARMACOGNOSIA
Created: 04/08/2017 11:50:10 a.m.
Spectrophotometer: GENESYS 6
Serial number: 2M6H070001
Firmware: 1.200

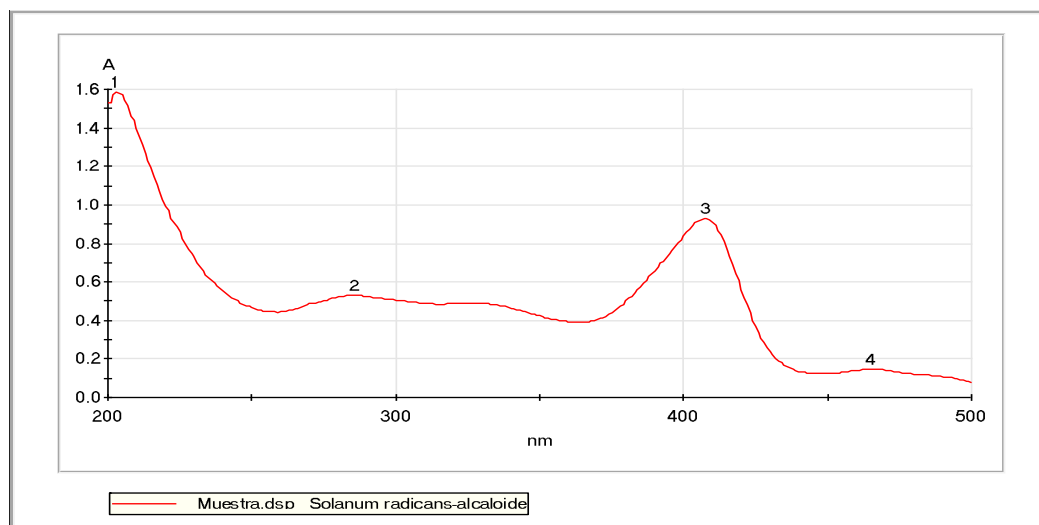


Muestra 1.dsp alfa - solanina

Maxima	Threshold: 0.01 A
1 408 nm;	0.184 A

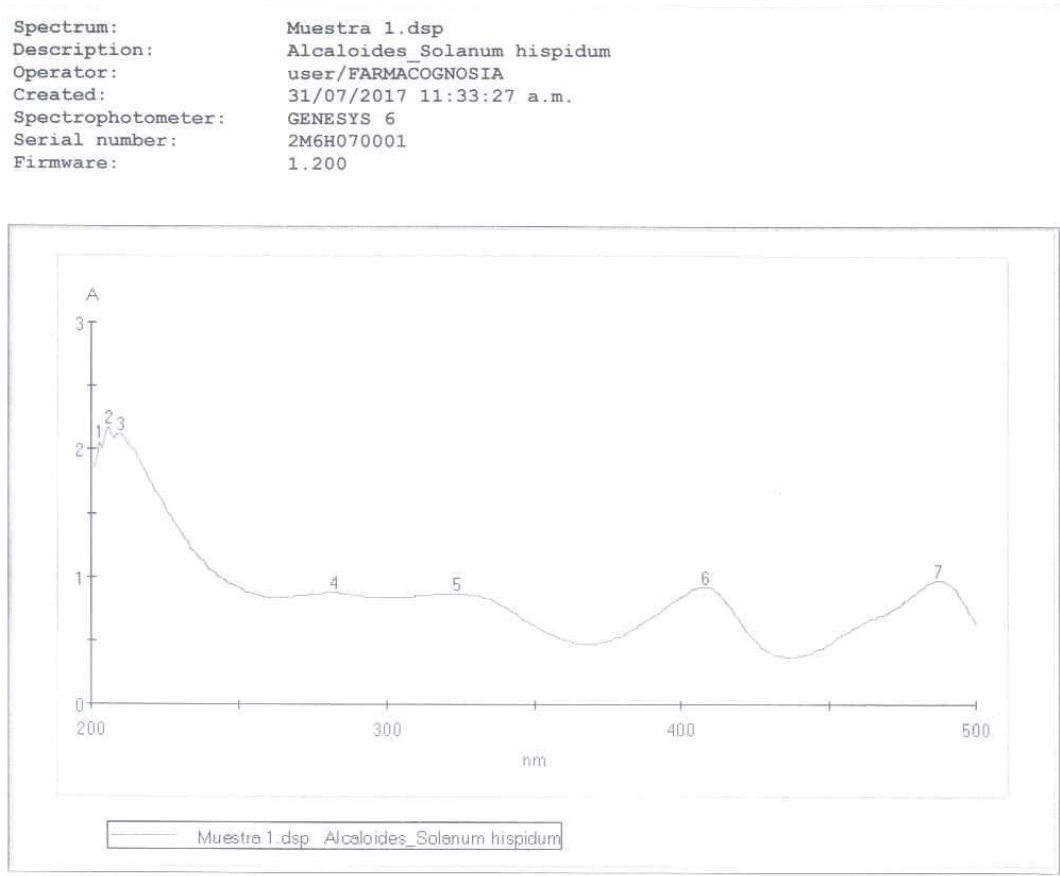
Anexo 15. Barrido espectral de *Solanum radicans* L. frutos en el laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.

Spectrum: Muestra.dsp
 Description: Solanum radicans-alcaloide
 Operator: user/FARMACOGNOSIA
 Created: 03/08/2017 12:01:15 p.m.
 Spectrophotometer: GENESYS 6
 Serial number: 2M6H070001
 Firmware: 1.200



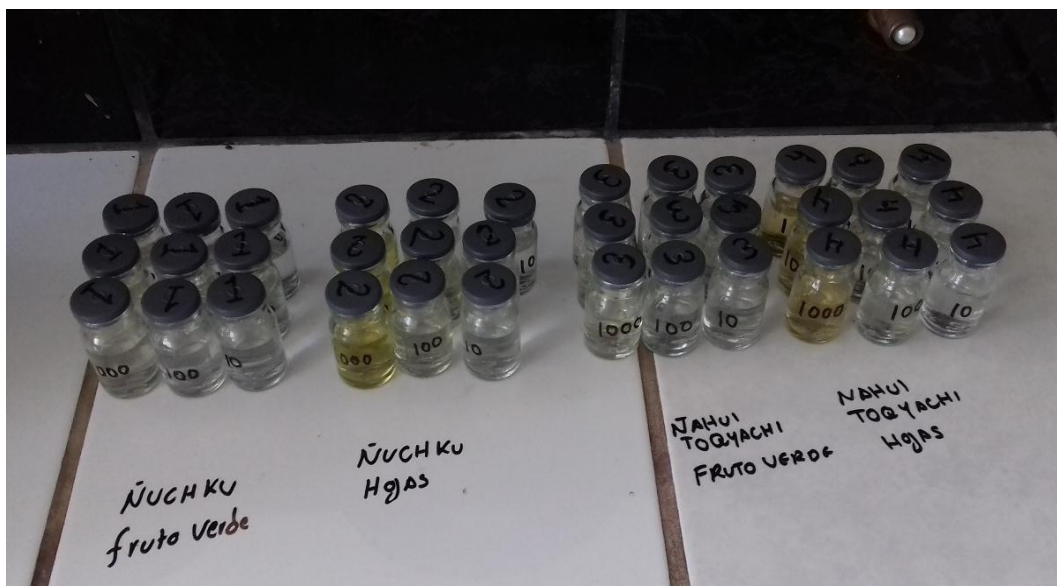
Muestra.dsp	Solanum radicans-alcaloide				
Maxima	Threshold: 0.01 A				
1 203 nm;	1.584 A	2 286 nm;	0.531 A	3 408 nm;	0.927 A
4 465 nm;	0.149 A				

Anexo 16. Barrido espectral de *Solanum hispidum* Pers. frutos en el laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.



Muestra 1.dsp		Alcaloides_Solanum hispidum			
Maxima		Threshold: 0.01 A			
1	203 nm;	2.062 A	2	206 nm;	2.176 A
3	210 nm;	2.122 A	4	282 nm;	0.875 A
5	324 nm;	0.865 A	6	408 nm;	0.923 A
7	487 nm;	0.973 A			

Anexo 17. Preparación de diluciones con los extractos de hojas y frutos *Solanum hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” y *Solanum radicans* L. “ñuchku” y luego se agrega los nauplios en el laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.



Anexo 18. Conteo el número de sobrevivientes de los nauplios en el laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.



Anexo 19. Valoración y test de linealidad de la solución estándar de α -solanina (Sigma Aldrich) Ayacucho 2017.

I. Valoración

1.1. Preparación de la Solución stock		
M α -solanina	2	Mg
Sol. Estándar	10	mL
Sol. Estándar	200	ug/mL
	200	ug/mL

1.2. Preparación de las soluciones estándares			
	Sol. stock (mL)	St (mL)	ug/mL
St1	0,5	5	20.00
St2	1,0	5	40.00
St3	1,5	5	60.00
St4	2,0	5	80.00

1.3. Curva de calibración	
St [ug/mL]	A
20.00	0.504
40.00	1.024
60.00	1.533
80.00	2.036

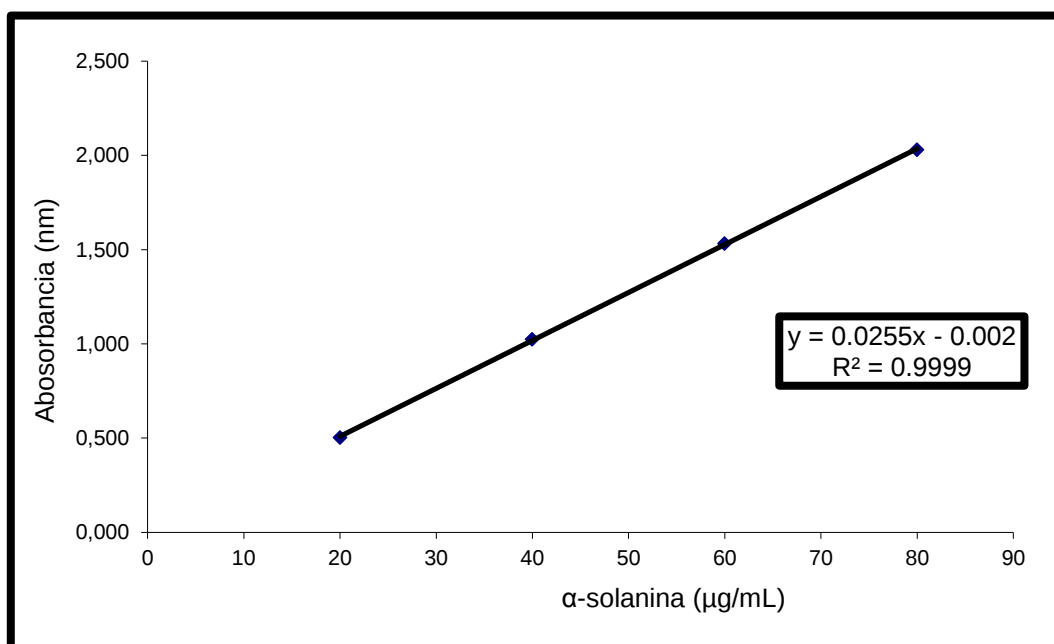
II. Test de linealidad

2.1. Cálculo de la ecuación de la recta	
B	0.0255
A	-0.0020
R	0.9999
R2	0.9999
N	4

2.2. Significancia estadística de la varianza de la pendiente					
X	y	xy	x ²	y ²	
20.00	0.504	10.080	400.00	0.25402	
40.00	1.024	40.960	1600.00	1.04858	
60.00	1.533	91.980	3600.00	2.35009	
80.00	2.036	162.880	6400.00	4.14530	
$\Sigma =$	200.00	5.10	305.90	40000	7.80

2.4.1. Cálculo de la concentración de las muestras problemas		
Estándares (ug/mL)	Absorbancia	Factor de calibración
20.00	.504	39.683
40.00	1.024	39.063
60.00	1.533	39.139
80.00	2.036	39.293
	Promedio	39.29
	Desviación estándar	0.28
	%C.V.	0.70
		Dispersión aceptable

Anexo 20. Curva de calibración de glicoalcaloides esteroidales totales de α -Solanina (Sigma Aldrich) Ayacucho 2017.



Anexo 21. Análisis de varianza de miligramo de alcaloide equivalente de solanina por droga seca de hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” y *Solanum radicans* L. “ñuchku”. Ayacucho 2017.

ANOVA					
mgA _{ES} /g droga seca					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	16,185	3	5,395	2582,600	2,785E-12
Dentro de grupos	,017	8	,002		
Total	16,202	11			

Anexo 22. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey para miligramo de alcaloide equivalente de solanina por droga seca de glicoalcaloides esteroideos totales de hojas y frutos de *Solanum hispidum* Pers. “ñahui toqyachi” y *Solanum radicans* L. “ñuchku”. Ayacucho 2017.

mgA_{ES}/g droga seca

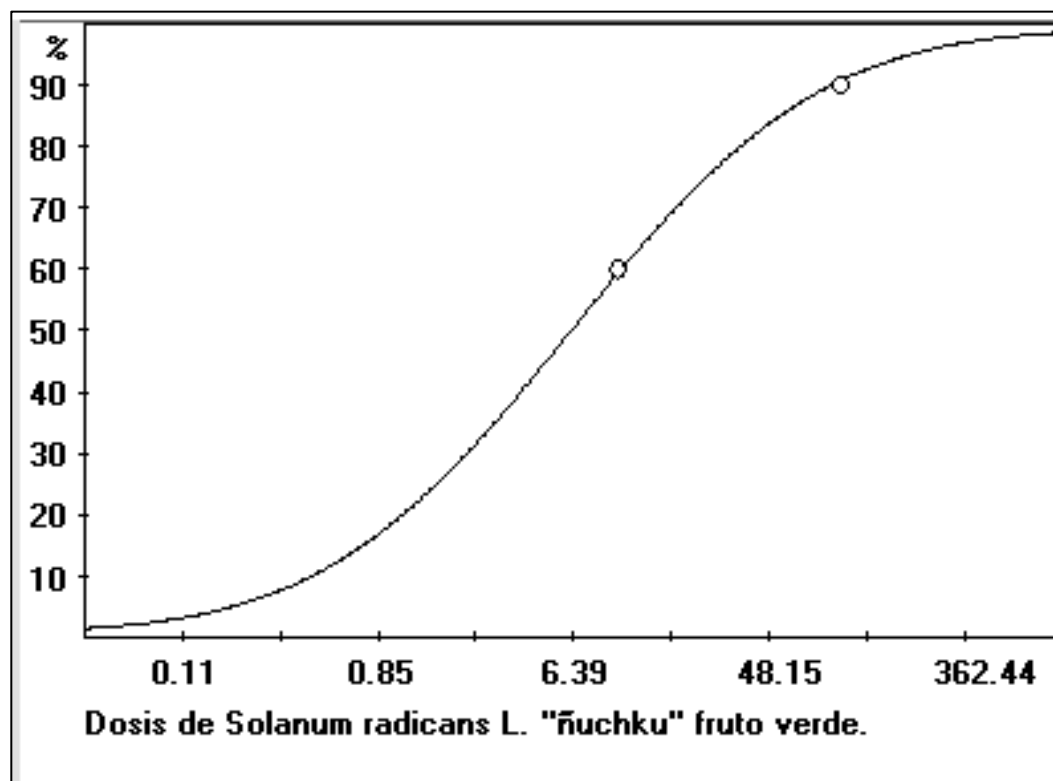
HSD Tukey^a

Droga	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
S. hispidum Pers. (hoja)	4	,9450		
S. hispidum Pers. (fruto)	4		3,5450	
S. radicans L. (hoja)	4		3,6300	3,6300
S. radicans L. (fruto)	4			3,7150
Sig.		1,000	,127	,127

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

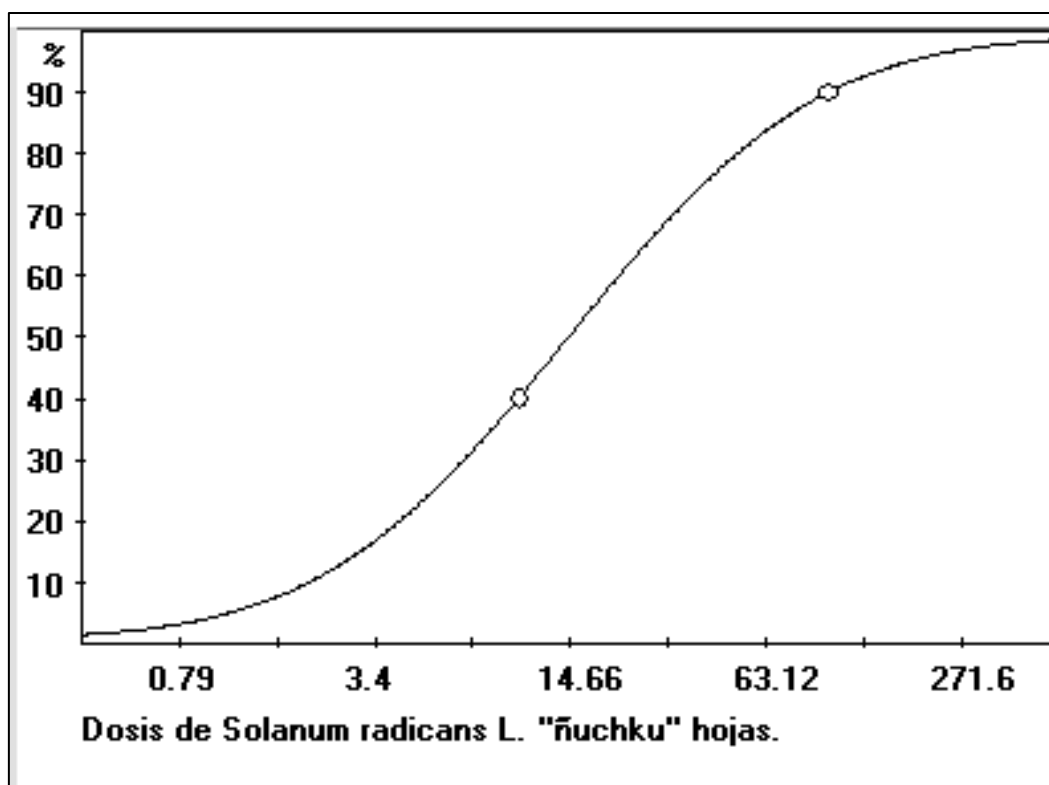
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

Anexo 23. Representación del cálculo de la concentración letal (CL_{50}) con software PROBITS de *Solanum radicans* L. "ñuchku" fruto verde. Ayacucho 2017.



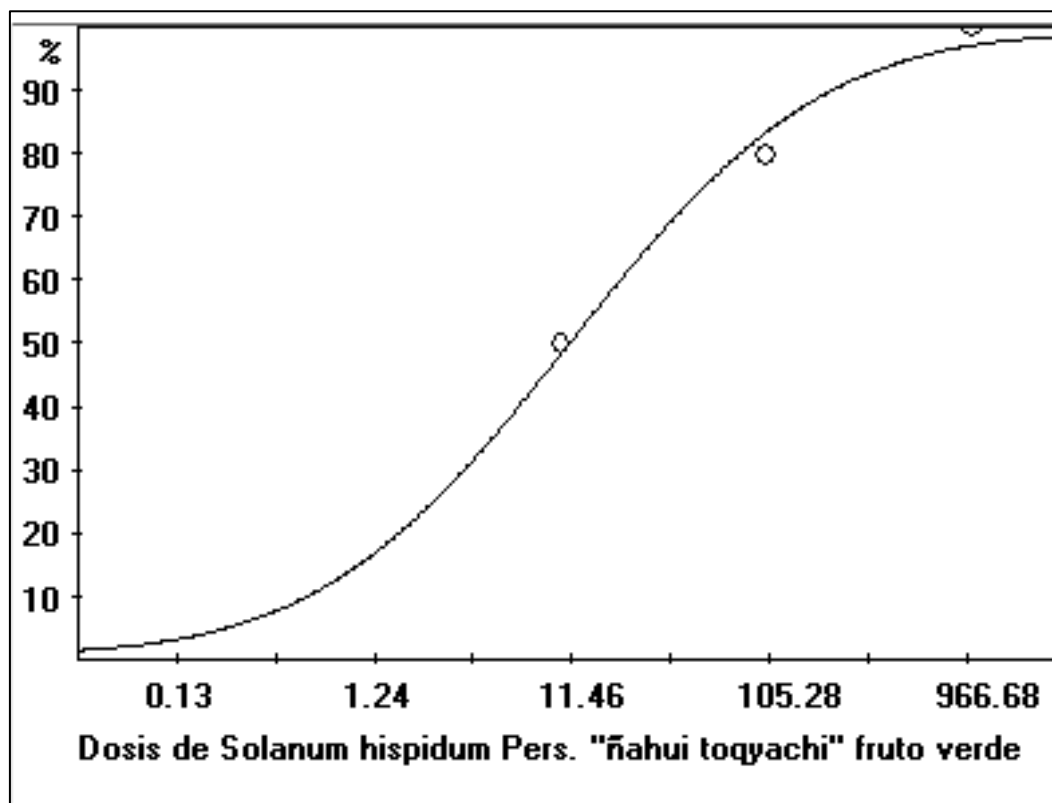
$CL_{50} = 6,40 \mu\text{g/mL}$

Anexo 24. Representación del cálculo de la concentración letal (CL_{50}) con software PROBITS de *Solanum radicans* L. "ñuchku" hojas. Ayacucho 2017.



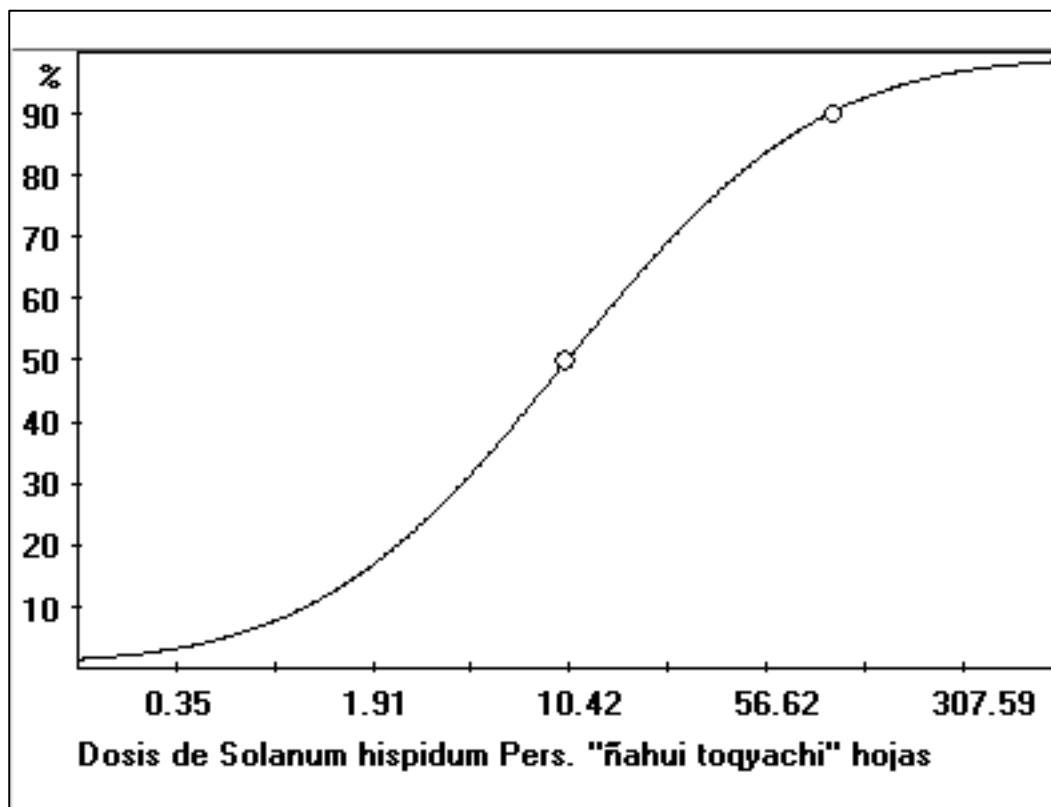
$CL_{50} = 14,67 \mu\text{g/mL}$

Anexo 25. Representación del cálculo de la concentración letal (CL₅₀) con software PROBITS de *Solanum hispidum* Pers. "ñahui toqyachi" fruto verde. Ayacucho-2017.



$$CL_{50} = 11,47 \mu\text{g/mL}$$

Anexo 26. Representación del cálculo de la concentración letal (CL_{50}) con software PROBITS de *Solanum hispidum* Pers. "ñahui toqyachi" hojas. Ayacucho-2017.



$$CL_{50} = 10.42 \mu\text{g/mL}$$

Anexo 27. Matriz de consistencia Ayacucho 2017.

Titulo	Problema	Objetivo	Hipótesis	Variable de estudio	Marco teórico	Metodología
Contenido de glicoalcaloides esteroidales totales en las hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. y <i>Solanum radicans</i> L. y su determinación de bioactividad frente a <i>Artemia salina</i> . Ayacucho 2017.	¿Cuál será el contenido de glicoalcaloides esteroidales totales en las hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. y <i>Solanum radicans</i> L. y su bioactividad frente a <i>Artemia salina</i> ?	General Determinar el contenido de glicoalcaloides esteroidales totales en hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> y <i>Solanum radicans</i> y su bioactividad frente a <i>Artemia salina</i> . Específico - Identificar la presencia de glicoalcaloides esteroidales totales en los extractos obtenidos en hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. y <i>Solanum radicans</i> L. - Cuantificar el contenido de glicoalcaloides esteroidales totales en hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> y <i>Solanum radicans</i>. - Determinar la bioactividad frente a <i>Artemia salina</i> con contenido de glicoalcaloides esteroidales totales en hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> y <i>Solanum radicans</i>.	El contenido de glicoalcaloides esteroidales totales en las hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. y <i>Solanum radicans</i> L. tienen bioactividad frente a <i>Artemia salina</i> .	- Glicoalcaloides esteroidales totales (mg%) contenidos en las hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. y <i>Solanum radicans</i> L. - Bioactividad frente a <i>Artemia salina</i>.	Antecedentes (Soto-2015) Determinó la concentración de glicoalcaloides esteroidales totales de las hojas de <i>Solanum habrochaites</i> S. Knapp & Spooner (Solanaceae). Se realizó la cuantificación espectrofotométrica de glicoalcaloides esteroidales totales expresados como solanina mediante el método descrito por Peña. (Rodolfo <i>et al.</i> -2009) Evaluó el efecto de <i>Solanum hispidum</i> sobre la proliferación de células hematopoyéticas <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> , demostrando que el extracto acuoso no ejerce ningún efecto citotóxico sobre células hematopoyéticas normales.	Tipo de investigación Básico descriptivo Población Hojas y frutos de <i>Solanum hispidum</i> Pers. y <i>Solanum radicans</i> L. que crecen en provincia de Huamanga, región Ayacucho. Muestra 250g de hojas y 250g de frutos de <i>Solanum hispidum</i> y <i>Solanum radicans</i> . El tipo de muestreo será no probabilístico o por conveniencia Métodos instrumentales para la recolección de datos Técnica espectrofotométrica UV/Vis. Recolección y secado de la muestra Extracción Pruebas cualitativas preliminares Cuantificación Espectrofotométrica ANÁLISIS DE DATOS Análisis descriptivo con representaciones de medidas de tendencia central y de distribución de las cantidades de glicoalcaloides totales (mg%) determinados. Se empleará el programa estadístico SPSS.v22. Los datos de la bioactividad en <i>Artemia salina</i> serán analizados utilizando el software para cálculo de Concentración letal (CL ₅₀) PROBITS.

