

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA



Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos
aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja".

Ayacucho – 2012.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR:

Bach. CCALLOCUNTO NÚÑEZ, REYNA ISABEL

AYACUCHO – PERÚ

2013

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

R.D.N. 235 – 2013 – FCB – D

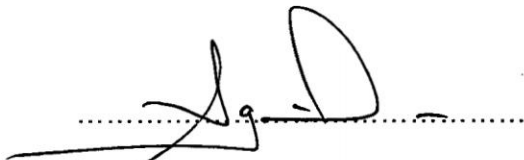
Bach. Reyna Isabel Ccallocunto Núñez

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro y doce minutos de la tarde del día viernes trece de diciembre del año dos mil trece, reunidos en el auditorium del Departamento Académico de Ciencias Biológicas, bajo la presencia del Mg. Enrique Javier Aguilar Felices (presidente encargado), con la asistencia de los miembros de Jurado calificador Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo y la Blga. Rosa Eloya Cortez Saavedra en calidad de miembro y secretaria docente. Cabe mencionar que el Mg. Enrique Aguilar Javier Aguilar Felices es el asesor de la tesis, para recepcionar la sustentación de la tesis titulada: Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" Ayacucho – 2012. Presentada por la bachiller en Farmacia y Bioquímica Srta. Reyna Isabel Ccallocunto Núñez, quien pretende optar el título profesional de Químico Farmacéutica.

El presidente del Jurado Calificador (e) Mg Enrique Javier Aguilar Felices inicio el acto de sustentación inicie su exposición en el tiempo de cuarentaicinco minutos Culminada la exposición, el presidente del Jurado Calificador solicita la participación de los miembros del Jurado Calificador que puede realizar las observaciones, aclaraciones y preguntas para la evaluación respectiva. Luego de esta etapa el presidente solicita a la sustentante y al público asistente para que puedan abandonar el auditorio, para que el Jurado Calificador pueda deliberar y evaluar. Cuyo resultado es el que sigue:

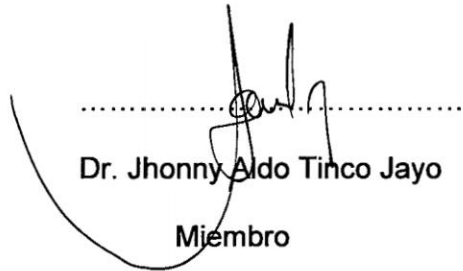
Jurado Calificador	Exposición	Respuesta pregunta	promedio
Mg. Enrique Aguilar Felices	17	17	17
Dr. Aldo Tinco Jayo	17	17	17
Blga. Rosa Cortez Saavedra	16	16	16
		PROMEDIO:	17

De la evaluación realizada la sustentante obtuvo la nota de DIECISIETE (17) de la cual dan fe los miembros del Jurado Calificador estampando sus firmas al pie de la de la presente acta, culminando la sustentación siendo las cinco y cuarenta minutos de la tarde



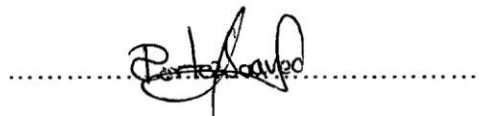
Mg Enrique Javier Aguilar Felices

Presidente (e)-asesor



Dr. Jhonny Aldo Tinco Jayo

Miembro



Blga. Rosa Eloya Cortez Saavedra

Miembro- secretaria docente

DEDICATORIA

A Dios, a mis padres Sergio y Juanita

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, *alma mater* de Ayacucho por todo su apoyo logístico, y por brindarme una formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, y en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica.

Al Mg Enrique Javier Aguilar Felices, por su asesoría y su apoyo incondicional para la elaboración y ejecución del proyecto.

A todas las personas de una y otra forma apoyaron de manera desinteresada en la ejecución del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXO	vii
RESUMEN	viii
I.INTRODUCCIÓN	1
II.MARCO TEÒRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her "auja auja"	4
2.3. Compuestos fenólicos	6
2.4. Radicales libres	9
2.5. Antioxidantes	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	14
3.2. Población y muestra	14
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	14
3.3.1. Recolección e identificación de la muestra	14
3.3.2. Preparación del extracto etanólico	15
3.3.3.Tamizaje fitoquímico	15
3.3.4. Extracción de compuestos fenólicos	15
3.3.5. Identificación de compuestos fenólicos.	15
3.4. Determinación de la actividad antioxidante.	16
3.4.1. Método de capacidad secuestradora del radical DPPH.	16
3.5. Bioensayo de toxicidad en <i>Artemia salina</i> .	18
3.6. Análisis de datos.	19
IV. RESULTADO	20
V. DISCUSIÓN	27
VI. CONCLUSIONES	32
VII. RECOMENDACIONES	33
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	34
ANEXOS	39

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Metabolitos secundarios del extracto etanólico de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her "auja auja"	22
Tabla 2. Características químicas de los compuestos fenólicos de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her "auja auja"	23
Tabla 3. Características cromatográficas de los compuestos fenólicos de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her "auja auja"	..24
Tabla 4. Características espectrales de los compuestos fenólicos de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her "auja auja"	..25

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1: Ácidos fenólicos derivados del ácido benzoico	8
FIGURA 2: Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico	9
FIGURA 3: Núcleo básico de los flavonoides	9
FIGURA 4: Estructura química de los flavonoides	10
FIGURA 5: Mecanismo antioxidante de compuestos fenólicos	14
FIGURA 6: Reacción de reducción de DPPH	18
FIGURA 7: Porcentaje de secuestro del DPPH según tratamientos	26
FIGURA 8: Bioactividad del extracto de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her "auja auja" sobre la <i>Artemia salina</i>	27

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
ANEXO 1: Certificado de identificación taxonómica	40
ANEXO 2: Flujograma de la obtención de los compuestos fenólicos	41
ANEXO 3: Características de los metabolitos secundarios	42
ANEXO 4: Recolección de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her "auja auja" Ayacucho-2012	43
ANEXO 5: Equipo de rotavapor para la concentración del extracto etanólico de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her "auja auja" Ayacucho-2012	44
ANEXO 6: Tubos de ensayo del tamizaje fitoquímico y reacción de Shinoda del extracto etanólico de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her "auja auja" Ayacucho-2012	45
ANEXO 7: Equipo de extracción líquido líquido de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her "auja auja" Ayacucho-2012	46
ANEXO 8: Pruebas químicas de los compuestos fenólicos aislados <i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her "auja auja" Ayacucho-2012	47
ANEXO 9: Cromatografía en capa fina de los compuestos fenólicos aislados (I), quercetina (II) y ácido cafeico (III) revelados con luz ultravioleta	48
ANEXO10: Cromatografía en capa fina de los compuestos fenólicos de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her "auja auja" revelados con cloruro férrico al 5% (I) y DPPH (II).	49
ANEXO11: Cromatografía en capa fina preparativa y recuperación de fracciones de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her "auja auja" Ayacucho-2012	50
ANEXO12: Curva espectral de las fracciones F1, F2 y F3 aisladas de <i>Erodium cicutariun</i> (L) L' Her "auja auja" Ayacucho-2012	51
ANEXO13: Curva espectral de los estándares ácido benzoico y ácido tánico	52
ANEXO14: Porcentaje de la actividad secuestradora del DPPH según tratamientos	53
ANEXO 15: Análisis de varianza del porcentaje de la actividad secuestradora del DPPH	54
ANEXO 16: Matriz de consistencia	55

RESUMEN

El estrés oxidativo está asociado con patologías de altas incidencias en el hombre, entonces la búsqueda de antioxidantes naturales reviste una extraordinaria importancia. El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de determinar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" durante los meses de octubre 2012 a marzo 2013. La muestra fue recolectada en el distrito de Chuschi, provincia de Cangallo, departamento de Ayacucho, obteniéndose los compuestos fenólicos a partir de un extracto etanólico y utilizando solventes de diferente polaridad, así mismo, se sometió a un tamizaje fitoquímico, complementando con las pruebas cromatográficas en capa fina y UV visible, la actividad antioxidante mediante el ensayo de captación del radical libre, 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) y la bioactividad en *Artemia salina* mediante la prueba de dosis límite. Los metabolitos secundarios hallados fueron: compuestos fenólicos, quinonas, catequinas, saponinas, azúcares reductores y taninos. En la fracción de acetato de etilo los compuestos fenólicos caracterizados fueron dos flavonoides y un ácido fenólico. Los compuestos fenólicos demostraron tener actividad secuestradora del radical libre DPPH que fue de (96,18) a la concentración de 100 ug/ml, comparable al ácido caféico (97,08%) y el ácido ascórbico (97,51%).

Se concluye que los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her demostraron tener actividad antioxidante.

Palabras clave: *Erodium cicutarium* (L) L' Her, compuestos fenólicos, antioxidante.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años hay un aumento en las áreas relacionadas con los nuevos avances en la prevención de la enfermedad especialmente el papel de los radicales libres y los antioxidantes.¹ Esta situación es apreciable ya que los mecanismos de los radicales libres han sido implicados en la patología de varias enfermedades humanas, incluyendo el cáncer, la aterosclerosis, la malaria, la artritis reumatoide y las enfermedades neurodegenerativas.² Estas especies reactivas, radicales libres, principalmente se encuentran en estados fisiológicos normales, y pueden ser beneficiosos cuando se producen a niveles bajos. Sin embargo, son perjudiciales en altas concentraciones cuando los sistemas de defensa antioxidantes endógenos se ven abrumados (estrés oxidativo), lo que ha sido implicada en estados de enfermedad.³ En aras de contribuir en la búsqueda de fuentes de antioxidantes naturales hemos seleccionado a la especie *Erodium cicutarium* (L) L' Her endémica en toda la sierra de nuestro país, que por las propiedades terapéuticas reportadas por la medicina folclórica peruana y dado que hay antecedentes científicos de su potencial antioxidante, ofrece un gran interés en su estudio intensivo. En este sentido, con el presente trabajo de investigación se buscó aislar los compuestos fenólicos de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja", por lo que al desarrollar el presente trabajo se persiguió los siguientes objetivos:

Objetivo General:

- Evaluar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja".

Objetivos Específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja".
- Aislar los compuestos fenólicos presentes en *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" y caracterizar mediante técnicas químicas y espectrales.
- Evaluar el efecto antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en *Erodium cicutarium* (L) L' Her. "auja auja" sobre los radicales libres de DPPH.
- Evaluar la bioactividad de los compuestos fenólicos presentes en *Erodium cicutarium* (L) L' Her. "auja auja" en *Artemia salina*.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Inocente (2009), determinó la actividad antioxidante y antimicrobiana de los compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico y evaluó la toxicidad a dosis límite de la corteza de *Triplares americana* L.⁴

En un estudio realizado por Cruzado *et al.*(2013), evaluó compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de *Cynara scolymus* L observándose que la muestra consumió el 50% de reactivo DPPH a una concentración cercana a 200 mg/ml, mientras que el ácido gálico (estándar) consumió el 50% de reactivo DPPH a una concentración aproximada de 9,5 mg/ml. Por lo tanto, un gramo de alcachofa liofilizada tiene la actividad antioxidante de 47 mg de ácido gálico.⁵

Moyano y Paola (2012), realizaron estudios de la composición química y la actividad antioxidante de aceites esenciales aislados de *Salvia officinales*, *Rosmarinus officinales*, *Thymus vulgaris* y *Lippia citriodora*.⁶

Aguilar (2006), determinó la actividad antioxidante e inmunológica de los flavonoides aislados de las hojas de *Smallanthus sonchifolius*, los cuales demostraron tener actividad antioxidante semejante a la rutina, quercetina y la vitamina C.⁷

Jung *et al.* (2003), evaluaron la actividad antioxidante de flavonoides contenidos en el tallo de *Prunus davidiana* de las fracciones obtenidas a partir de extracto

metanólico como diclorometano, acetato de etilo, butanol y agua. Lográndose una buena actividad antioxidante con la fracción de acetato de etilo.⁸

Zhao y Yin (2011), en los estudios químicos realizados, determinaron cuatro compuestos ácidos como el ácido gálico, ácido protocatéquico, corilagina y ácido elágico en *Erodium*.⁹

Gohar *et al.* (2003), en un estudio realizado aislaron geraniina y ácido gálico del extracto alcohólico de las partes aéreas de *Erodium glaucophyllum*.¹

2.2 *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja"

2.2.1 Clasificación taxonómica

Se ubica en la siguiente categoría taxonómica:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	GERANIALES
FAMILIA	:	GERANIACEAE
GÉNERO	:	<i>Erodium</i>
ESPECIE	:	<i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her
NOMBRE COMÚN	:	"auja auja"

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* (2012) (Anexo 1).

2.2.2 Descripción botánica

Hiervas anuales, tamaño de diez a cincuenta cm. Tallo rojizo, ramificado en la parte superior. Hojas alternas basales, pinnadas, lobuladas. Inflorescencias generalmente umbelíferas, pedunculadas. Flores con cinco sépalos, cinco pétalos rosadas violáceos. Fruto esquizocarpo, mericarpios dividiéndose en picos largos retorcidos en espiral por debajo en la madurez, con las cerdas persistentes. Semillas ovoideo lanceoladas levemente granuladas.¹¹

2.2.3 Nombres populares

Alfiler, alfilerillo, ahujilla, alfilerillo hembra, dedito, peludilla, reloj-reloj, relu-relu, tenedor.¹² auja-auja, agujaj-maman, alfiler orgujo, alfilerillo, montallapaño, rechijillo, trinchi-trinchi, tupu-tupu, yauri-yauri.¹³

2.2.4 Distribución geográfica

Erodium es un género con 75 especies de las regiones templadas de Europa, Asia y la región mediterránea, todas las especies peruanas, son de origen mediterráneo. Se distribuyen en toda la sierra peruana.¹⁴

2.2.5 Usos en la medicina tradicional

El cocimiento como tónico y en la blenorragia, en curación de heridas.¹⁵ En Argentina, se usa con bastante frecuencia como hemostático y astringente, en medicina popular.¹²

2.2.6 Composición química

En los estudios químicos realizados muestras consistentes en plantas enteras, hojas y tallos, determinó la presencia de los aceites esenciales como ácidos grasos, derivados de carotenoides, terpenoides, ácido exadecanoico y acetona hexahidrofarnesilo.¹⁶

De la planta entera han sido aislados seis compuestos polifenólicos naturales como el ácido carboxílico, brevifolina, ácido elágico, galato de metilo, ácido gálico y ácido protocatéquico a partir del extracto metanólico.¹⁷

También fueron examinados los aceites esenciales por espectrometría de masas, reportando componentes muy similares que correspondían principalmente a isomentona (12,8%, 11,2%), citronelol (11,6%, 15,4%), geraniol (15,9%, 16,7%) y eugenol metílico (11,2%, 10,6%), respectivamente.¹⁸

2.2.7 Estudios farmacológicos

Se ha ensayado las propiedades antioxidantes de las fracciones hidrófobas tales como las de éter de petróleo, benceno y de cloroformo, así como las

fracciones hidrófilas, es decir, las fracciones acuosas y acetato de etilo las mismas que mostraron un efecto antioxidante.¹⁹

La actividad farmacológica de los extractos de las hojas de *Erodium cicutarium* ha sido demostrada *in vitro*, en preparaciones de músculo liso, esquelético y cardíaco. La mayoría de los extractos aumentó el tono de íleon de cobayo, útero de rata y el diafragma de rata con extractos orgánicos (hexano y metanol) con una actividad mayor que los extractos acuosos. Un efecto inotrópico negativo se observó en el corazón de conejo. La acción espasmogénica inducida por el extracto de la planta en el útero aislado de la rata fue consistente con el uso abortivo descrito de la especie.¹⁸

2.3 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se refieren a un grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, y que se presentan frecuentemente como glicósidos, combinados con unidades de azúcar. Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua; pueden ser detectados por el intenso color verde, púrpura, azul o negro, que producen cuando se le agrega una solución acuosa o alcohólica al 1% de cloruro férrico. Dada la naturaleza aromática de estos compuestos fenólicos, ellos muestran intensa absorción en la región UV del espectro, siendo este método espectral especialmente importante para su identificación.²⁰

2.3.1 Propiedades biológicas de compuestos fenólicos

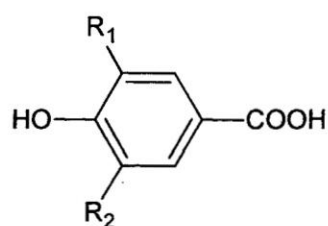
Los compuestos fenólicos tienen una gran capacidad antioxidante. La actividad biológica responsable del efecto preventivo sobre algunas enfermedades y el mecanismo por el que actúan reside en su capacidad para captar radicales libres que se pueden generar en las células del cuerpo humano y que son resultado de la combinación de muchos factores ambientales.²¹

2.3.2 Ácidos fenólicos - Se caracterizan por poseer un anillo aromático con un grupo carboxilo, pertenecen a dos clases diferentes, ácidos hidroxibenzoico (HBA) y ácidos hidroxicinámicos (HCA), que se derivan a partir de dos moléculas no fenólicas, ácido benzoico y cinámico, respectivamente. En contraste con otros compuestos fenólicos, HBA y HCA presentan un carácter ácido debido a la presencia de un grupo carboxílico en la molécula. Ellos están ampliamente representados en las plantas, aunque su distribución puede variar fuertemente con especies, variedad, y etapa fisiológica. Ellos juegan claramente un papel tanto en la interacción entre la planta y su entorno biótico o abiótico y en las cualidades organolépticas y nutricionales de las frutas, vegetales y productos derivados, por ejemplo, zumos de frutas, vinos y sidras. Además, sus propiedades antioxidantes son esenciales para la estabilidad de los productos alimenticios y en los mecanismos de defensa antioxidantes de los sistemas biológicos.²²

2.3.2.1 Clasificación de los ácidos fenólicos

a) Derivados del ácido hidroxibenzoico C₆ - C₁

Se encuentran distribuidos en el reino vegetal, poseen 7 átomos de carbono, el grupo carboxílico está enlazado directamente al anillo aromático C₆ - C₁, tienen un esqueleto formado por fenilpropanoides. Se encuentran libres o combinados en forma de hetérosidos o ésteres. Están presentes en forma de aldehidos, derivados metoxilados y algunos alcoholes.^{23, 24}

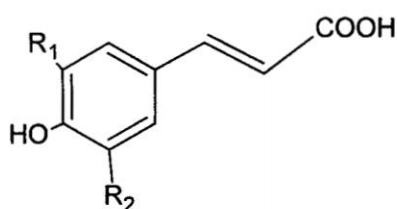


Ácido p-hidroxibenzoico

R ₁	R ₂	
H	H	ácido p-hidroxibenzoico
OCH ₃	H	ácido vanílico
OH	OH	ácido gálico
OCH ₃	OCH ₃	ácido siríngico

Figura 1. Ácidos fenólicos derivados del ácido benzoico²⁵

b) Derivados del ácido hidroxicinámico C₆ – C₃ Es el grupo más distribuido en la naturaleza, poseen 9 átomos de carbono, el grupo carboxilo está enlazado a partir de un sustituyente 2-propanilo C₆ - C₃. Los principales ácidos son (caféico, ferúlico, *p*-cumárico y sináptico).^{23, 24}



Ácido *p*-hidroxicinámico

R ₁	R ₂	
O	H	ácido <i>p</i> -cumárico
OH	H	ácido caféico
OCH ₃	H	ácido ferúlico
OCH ₃	OCH ₃	ácido sináptico

Figura 2. Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico²⁵

2.3.3 Flavonoides.

Son pigmentos naturales presentes en los vegetales, responsables de la coloración de flores y frutos, están ampliamente extendidos en todo el reino vegetal constituyen la mayoría de los pigmentos amarillos (flavonas, flavonoles, chalconas, auronas), rojos y azules (antocianos). Los flavonoides comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C₆ - C₃ - C₆), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano. Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6', contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos que tienen excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante, poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antitrombóticas, antimicrobianos, antialérgicas, antitumorales.^{26, 20}

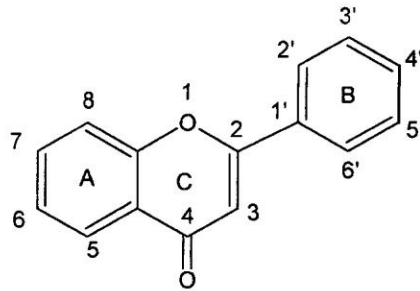


Figura 3. Núcleo básico de los flavonoides.²⁵

2.3.3.1 Clasificación de flavonoides

Las variaciones estructurales en los anillos permiten subdividir a los flavonoides en seis subclases: flavonas, flavonoles, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas, flavanoles.²⁴

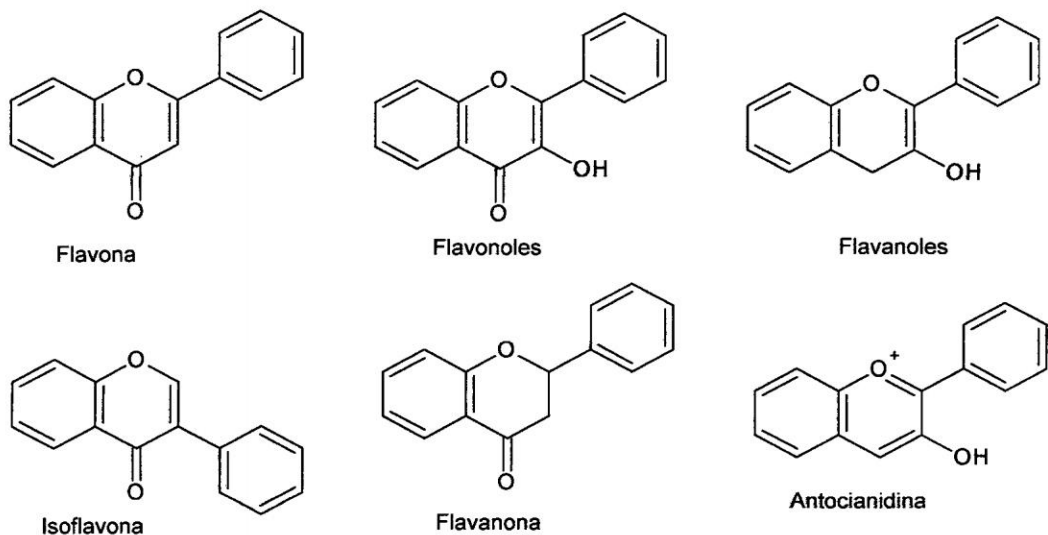


Figura 4. Estructura química de los flavonoides.²⁰

2.4 Radicales libres.

Son aquellas moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, esta configuración espacial les hace muy inestable, extraordinariamente reactivos y de vida efímera, con una enorme capacidad para combinarse con la mayoría de las biomoléculas celulares (carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos) provocando un gran daño en

ellas y en las membranas celulares, además cumplen numerosas funciones útiles en el organismo (de hecho, nuestro propio cuerpo los fabrica en cantidades moderadas para luchar, por ejemplo, contra las infecciones), pero en cantidades excesivas tienen el potencial de dañar nuestras células y el material genético allí contenido. Los principales radicales libres que se originan son los derivados de la respiración aerobia y se denominan especies reactivas de oxígeno (ROS), cuya principal fuente son las mitocondrias, los lisosomas, los peroxisomas, la membrana nuclear, citoplásmica y del retículo endoplasmático, lo cual puede conducir a mutación y muerte celular.²⁷

2.4.1 Fuentes de los radicales libres

Fuentes endógenas: Son elaborados continuamente como un producto del metabolismo normal de cada célula e inactivados por un conjunto de mecanismos unos enzimáticos y otros de atrapamiento.^{29,30} Las fuentes endógenas de especies reactivas incluyen: las mitocondrias, los peroxisomas, los lisosomas, las células fagocíticas y el citocromo P – 450.³¹ Entre las células que generan y utilizan los radicales libres del oxígeno tenemos a los neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos y las células endoteliales, están dotadas de diversas proteínas así como de vías metabólicas que generan especies agresivas, cuyo fin es lesionar y destruir elementos extraños.³²

Fuentes exógenas: Los radicales libres se producen como respuesta a la contaminación ambiental, radiación ionizante, luz ultravioleta, ciertas drogas, toxinas fúngicas, xenobióticos, reactivos, solventes industriales, componentes del tabaco, algunas enfermedades como diabetes y procesos inflamatorios.^{33,34}

2.4.2 Especies reactivas del oxígeno (ERO)

Las ERO son moléculas muy reactivas, tienen una vida media corta, por lo que actúan cercano al sitio en que se forman. Se producen en el metabolismo del oxígeno en todos los sistemas biológicos aeróbicos y reaccionan con todas las

moléculas que se encuentran a su alrededor, su gran reactividad se debe a que poseen electrones desapareados que les hace reaccionar con otras moléculas orgánicas en procesos de óxido-reducción, incluyen tanto a los derivados radicales como los no radicales, que son agentes oxidantes y/o fácilmente convertibles en oxidantes.^{35,36} Entre las ERO se encuentran:

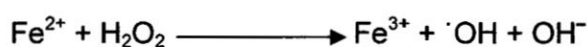
Anión superóxido (O_2^-), se forma a partir de la captación de un electrón por una molécula de oxígeno.³⁵



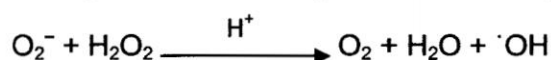
Peróxido de hidrógeno (H_2O_2), se forma cuando el radical libre superóxido capta dos protones.³⁵



El peróxido de hidrógeno puede reaccionar vía reacción de Fenton con metales de transición como el Fe^{2+} o el Cu^+ y producir OH^- .³⁷



Radical hidroxilo (OH^-), es la ERO más potente, puede dañar a casi todas las moléculas que se encuentran en las células vivas, inicia una cadena de reacciones, aparece cuando el peróxido de hidrógeno se une al superóxido.³⁵



Oxígeno singlete (1O_2), especie ubicua que puede ser formado por absorción directa de radiación, por fotólisis (destrucción por acción de la luz) en aire contaminado, por irradiación de O_2^- o secundariamente a la excitación del óxido de nitrógeno luego de la absorción de energía radiante.³⁸

2.4.3 Daño celular producido por las Especies Reactivas de Oxígeno (ERO)

a) Lípidos, se produce un mayor daño, ya que afecta la estructura de ácidos grasos poliinsaturados, alterando la permeabilidad celular, produciendo edema y muerte celular. Este daño puede desencadenarse por el oxígeno, el peróxido de

hidrógeno y el radical hidroxilo que es el más dañino, una vez que se inicia este proceso toma forma de cascada, con producción de radicales libres que son los responsables de los efectos citotóxicos.³⁵

b) Proteínas, hay oxidación de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina, metionina, entrecruzamiento de enlaces proteína-proteína, lípido-lípido, proteína lípido, estos son susceptibles al daño del radical OH y como resultado final puede producir lisis celular.^{30,35}

c) Ácido desoxirribonucleico (ADN), los radicales OH y O₂⁻ causan cambios conformacionales, alteración de bases, ruptura de una de la doble cadena y pérdida de nucleótidos, presentando una mutación antes de la replicación. Estos radicales pueden atacar tanto purinas como pirimidinas.³⁹

2.4.4 Estrés oxidativo

Es el desbalance entre la producción de ERO y la defensa antioxidante que provoca un daño orgánico conocido estrés oxidativo, que lleva a una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos que ocasionan el deterioro y muerte celular.⁴⁰

2.5 Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que retardan el comienzo o disminuyen la velocidad de oxidación de los materiales oxidables, capaces de neutralizar los radicales libres, debido a esto es que los antioxidantes son a menudo agentes reductores. El antioxidante al reaccionar con el radical libre cede un electrón, se oxida y se transforma en un radical libre débil no tóxico. Bajo condiciones fisiológicas, el organismo puede prevenir el daño producido por las especies oxidantes, a través de mecanismos de protección que incluye elevar los niveles intracelulares de defensas antioxidantes.^{41, 42}

2.5.1 Clasificación de los antioxidantes

2.5.1.1 Antioxidantes endógenos

Son los sistemas antioxidantes que se producen dentro del organismo para combatir la acción de los radicales libres. Se clasifican en enzimáticos (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, catalasa) y no enzimáticos (glutatión, melatonina, estrógenos, ácido úrico, albúmina).^{35,39}

2.5.1.2 Antioxidantes exógenos

Útiles cuando el sistema endógeno se satura, capturan los radicales libres evitando la reacción en cadena, este proceso se obtiene mediante la dieta.

Dentro de éstos antioxidantes encontramos a la vitamina C, vitamina E, carotenoides y compuestos fenólicos.³⁰

2.5.2 Mecanismo antioxidante de los compuestos fenólicos

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos, está relacionado con su estructura química, debido a la presencia de grupos hidroxilo y a su estructura aromática. Los compuestos fenólicos actúan, como donadores de hidrógeno o electrones, al ceder un electrón al radical libre, la molécula se queda con un electrón desapareado, que se estabiliza gracias a la deslocalización de los dobles enlaces, actúan como agentes reductores que evitan la reacción oxidante atrapando a las ROS antes de que causen daño, actúan también como prooxidantes quelando metales.^{43,44}

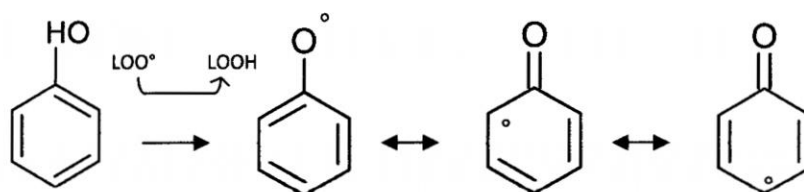


Figura 5. Mecanismo antioxidante de los compuestos fenólicos.⁴³

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios de Farmacognosia del Área académica de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de octubre del 2012 a marzo del 2013.

3.2 Definición de población y muestra

Población: Planta entera de la especie *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja", procedentes del distrito de Chuschi, provincia de Cangallo de la región de Ayacucho.

Muestra: 500 g de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja".

3.3 Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1 Recolección e identificación de la muestra

La planta entera de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" fue recolectada en el distrito de Chuschi, región de Ayacucho a 3850 m.s.n.m. Se seleccionaron la planta adulta e intacta (Anexo 3) y se procedió a su acondicionamiento y traslado en cajas de cartón a los laboratorios del Área de Farmacia de la UNSCH para su secado, pulverización y obtención del extracto etanólico. En la identificación taxonómica se emplearon las hojas, flores, y raíz (planta entera) en el laboratorio

de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas por la Blga. Laura Aucasimi Medina (Anexo 1)

3.3.2 Preparación del extracto etanólico

Se realizó la maceración de 500 g de planta entera, el material seco y molido fue sometido a maceración durante 7 días con 3 litros de etanol al 96° en un frasco ámbar. Luego se filtró con papel Whatman N° 40 y la solución etanólico fue concentrado a presión y temperatura reducida hasta sequedad en una estufa a una temperatura no mayor de 50 C.

3.3.3 Tamizaje fitoquímico

La caracterización fitoquímica se basó en el agrupamiento de metabolitos estructuralmente semejantes, para identificarlos por su comportamiento químico frente a reacciones estandarizadas. Se realizaron las pruebas de coloración al extracto etanólico de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" que se fundamentan en los cambios estructurales ocasionados en los metabolitos presentes, como aparición o desaparición de una coloración, formación o dilución de un precipitado o desprendimiento de gas.^{20, 45} (Anexo 6)

3.3.4 Extracción de los compuestos fenólicos

El extracto etanólico seco se reconstituyó con agua destilada y se trató con éter de petróleo con la finalidad de eliminar grasas, ceras, pigmentos y otros metabolitos que puedan interferir con la extracción de los compuestos fenólicos.

La extracción líquido-líquido con acetato de etilo se realizó utilizando un embudo de separación, para recuperar finalmente la fracción de acetato de etilo donde se encuentra los compuestos fenólicos.⁷ (Anexo 7)

3.3.5 Identificación de compuestos fenólicos

Pruebas cualitativas. Las fracciones aisladas se sometieron a la identificación de complejos fenólicos con cloruro férrico; identificación de sustancias

reductoras con permanganato de potasio y la prueba de decoloración del DPPH.⁴⁵

Cromatografía en capa fina (CCF)

Sistema cromatográfico:

- Fase estacionaria: Placa cromatográfica 20 x 20 conteniendo silicagel G 254.
- Fase móvil: Butanol: ácido acético: agua (4:1:5)
- Volumen de inyección: 20 µl
- Revelador: Luz ultravioleta, cloruro férrico y DPPH.

La fracción de acetato de etilo se disolvió con 0,5 ml de metanol y fue aplicada en la base de la placa cromatográfica con capilares de vidrio. Se llevó a una cubeta cromatográfica que contendría como sistema de solventes BAW (butanol, ácido acético y agua) en una proporción de 4:1:5 (Lock, 1994).²⁰ Se retiró la placa y se dejó secar al aire para luego observar bajo lámpara de luz UV. Fue revelado con cloruro férrico 1% y DPPH. Las soluciones estándar que se usaron fueron: ácido cafeico, ácido clorogénico y quercetina. Una parte de la fracción de acetato de etilo se sembró en una placa cromatográfica de 20 x 5 conteniendo silicagel G254 y como sistema solvente butanol: ácido acético: agua (4:1:5). La siembra se realizó en bandas con el propósito de aislar y caracterizar los compuestos fenólicos, los cuales se evidenciaron en la luz ultravioleta. Estas bandas fueron raspadas recuperados, disueltos en metanol y filtrados, obteniéndose 3 bandas.

Pruebas espectrales

Las bandas obtenidas fueron leídas en el espectrofotómetro ultravioleta GENESYS 6, en el rango de 200 a 500 nm, registrándose los máximos picos de absorción (Anexo 12).

3.4 Determinación de la actividad antioxidante

3.4.1. Actividad secuestradora del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo.

Fundamento:

Uno de los métodos para determinar la capacidad antioxidante es aquel que emplea al radical DPPH, el cual por su estabilidad es destruido solamente por antioxidantes, de tal manera que el mejor compuesto destructor será el mejor antioxidante. Reacción química en el que el radical libre DPPH sustrae un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (antioxidante), producto de este cambio se desarrolla un cambio de color, de azul-violeta a amarillo, al disminuir la concentración de radical DPPH.⁴⁶

La reacción es:

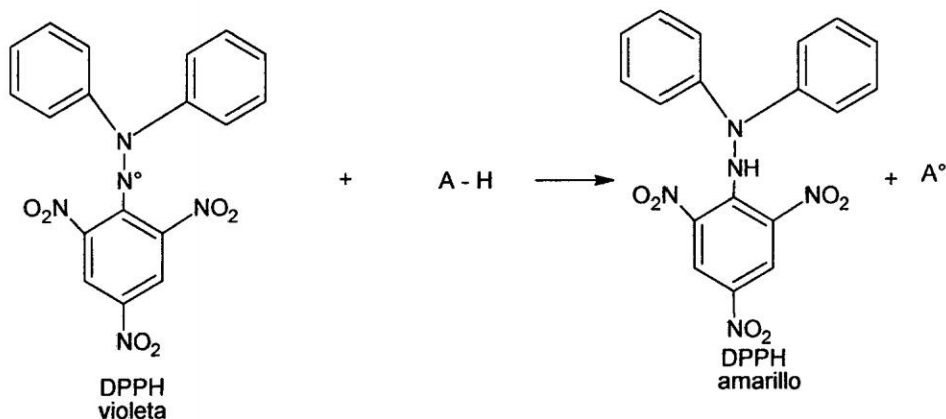


Figura 6. Reacción de reducción del DPPH con el antioxidante.⁴⁶

Procedimiento

El ensayo se realizó de la siguiente manera, utilizándose:

- Una solución metanólica de DPPH de 20 µg /l.
- Una solución metanólica del extracto a una concentración de 300 µg/ml (solución A)
- Una solución blanco de metanol: agua (2:1) para ajustar el espectrofotómetro a cero.

- Un blanco de muestra con 0,75 ml de muestra (solución A) más 1,5 ml de metanol.
- Un patrón de referencia con 1,5 ml de DPPH más 0,75 ml de agua destilada.
- La muestra, con 0,75 ml de solución A y 1,5 ml de DPPH obteniéndose una solución final de 100 µg/ml.
- Inmediatamente se dejó a temperatura ambiente por 5 minutos y se realizó la lectura de la absorbancia a 517 nm en el espectrofotómetro.
- Se diluyó la solución A con metanol en una proporción de 1:1 obteniéndose una solución final de 50 µg/ml (solución B) y luego en una proporción de 1:9, para obtener una concentración final de 10 µg/ml (solución C).
- Con la solución B y C se procedió de igual modo que en el paso 7. Para la comparación, el estándar vitamina C, se preparó siguiendo el mismo procedimiento que conllevó a lograr concentraciones de 100 µg/ml, 50 µg/ml y 10 µg/ml. Para los cálculos del porcentaje de actividad antioxidante se emplea la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Secuestro del DPPH} = \frac{Ac - (Am - Ab)}{Ac} \times 100$$

Dónde:

Ac: Absorbancia del DPPH.

Am: Absorbancia de la muestra.

Ab: Absorbancia del blanco

3.5. Bioensayo de toxicidad en *Artemia salina*

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 CL₅₀ (concentración letal 50).⁴⁷

Procedimiento:

Se preparó agua de mar, oxigenándose por 1 hora, se agregó 50 mg de huevos de *Artemia salina* y una pizca de levadura a 350 ml de agua marina (3,8 g de sal marina para un litro de agua), colocándose en un lugar con luz artificial por 48 h. Se disolvió 20 mg del extracto en 2 ml de agua de mar, preparándose diluciones de 1000, 100, 10 ppm, por triplicado, se transfirió 500, 50 y 5 μ l a tubos, agregó 10 nauplios, completándose a 5 ml con agua de mar y dejó a temperatura ambiente con luz artificial; a las 24 horas se observó el número de sobrevivientes

3.6. Análisis de datos

Los resultados de la actividad antioxidante fueron representados en forma de figuras en función de las medias. Las diferencias entre las medias fueron contrastadas mediante el análisis de varianza factorial (ANOVA) a un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$).

En el bioensayo sobre *Artemia salina*, los datos fueron analizados utilizando un programa de computadoras para cálculo de Probits que permitió determinar los valores de Concentración Letal 50 (CL₅₀).

IV. RESULTADOS

Tabla 1: Metabolitos secundarios presentes en extracto etanólico de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja"

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Azúcares reductores	Benedict	++	Precipitado rojo
Catequinas	Catequina	+++	Verde carmelita a luz UV
Lactonas, cumarinas	Baljet	+++	Precipitado rojo
Flavonoides	Shinoda	++	Rojo intenso
Fenoles, taninos	Cloruro férrico	+++	Verde intensa
Triterpenos, esteroides	Liebermann-Burchard	++	Verde oscura

Leyenda:

(+) : Leve

(++) : Moderada

(+++): Abundante

Tabla 2: Características químicas de los compuestos fenólicos de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja"

Ensayos	Resultados	Observaciones
FeCl ₃ 5%	+++	verde oscuro
KMnO ₄	+++	decolora y precipita
DPPH	+++	decolora

Leyenda:

(+) : Leve

(++) : Moderada

(+++): Abundante

Tabla 3: Características cromatográficas de los compuestos fenólicos de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja"

Fracción	Revelador		
	Fluorescencia	FeCl ₃	DPPH
Acetato de etilo	marrón oscuro	Marrón	amarillo
	azul celeste	Marrón	amarillo
	Amarillo	Amarillo	amarillo
Ácido caféico	Celeste	Marrón	amarillo
Quercetina	Amarillo	Marrón	amarillo

Tabla 4: Características espectrales en el espectro ultravioleta de los compuestos fenólicos de *Erodium cicutarium* (L) L' He "auja auja"

Fracción	Sub-fracciones	Ultravioleta (nm)
	F1 (marrón)	340 nm
Acetato de etilo	F2 (azul celeste)	255 nm y 277 nm
	F3 (amarillo)	270 nm y 360 nm
Ácido benzoico		230 nm y 270 nm
Ácido tánico		220 nm y 272 nm

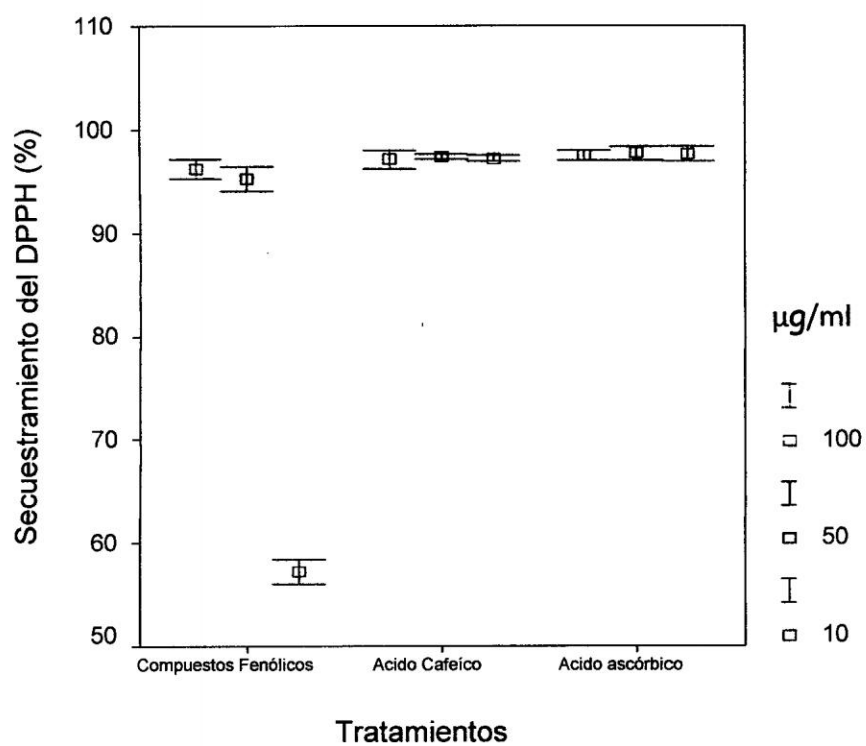


Figura 7. Porcentaje de secuestro del DPPH según tratamientos.

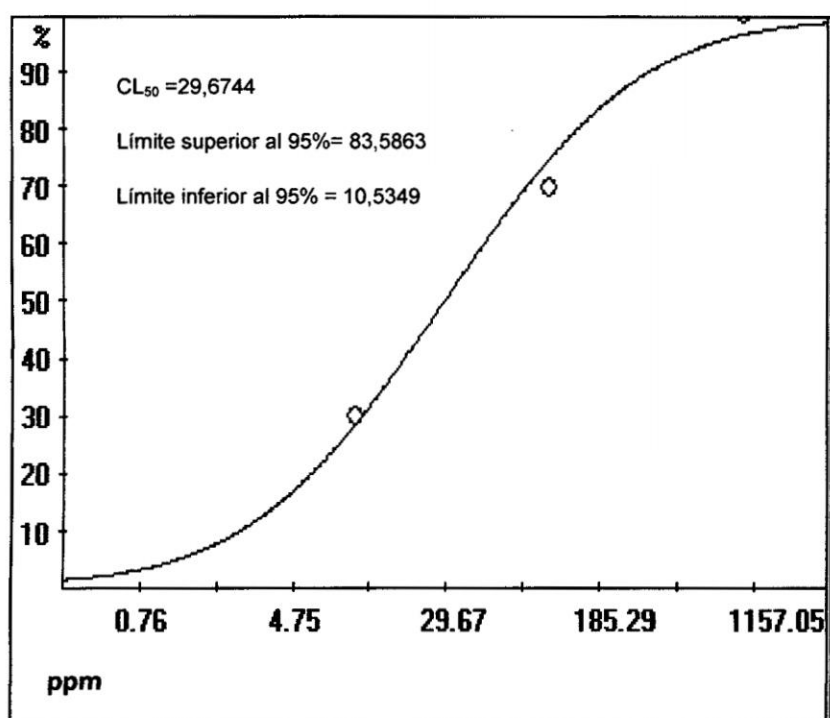


Figura 8. Bioactividad del extracto de *Erodium cicutarium* (L) L' Her. "auja auja" sobre *Artemia salina*.

V. DISCUSION

Para la extracción de los compuestos fenólicos, se utilizó una secuencia de disolventes con polaridad divergente.⁴⁸ De esta manera se procedió a la extracción de los compuestos fenólicos con diferentes solventes, primeramente con etanol para extracción de los metabolitos secundarios presente en la planta, segundo con el éter de petróleo para poder eliminar las resinas y grasas del extracto, después se extrajo con acetato de etilo para extraer los compuestos fenólicos⁷ (Anexo 2).

Los metabolitos secundarios encontrados en abundancia fueron: catequinas, cumarinas y fenoles y/o taninos, los compuestos fenólicos pueden ser detectados por el intenso color verde, azul o negro que producen cuando se le agrega el cloruro férrico al 1%. En la prueba de catequina se evidencia por la fluorescencia verde a la luz UV, así mismo, en la prueba de Baljet para identificar cumarinas dan un precipitado de color rojo y en concentraciones moderadas se identificó flavonoides, azúcares reductores y triterpenos y/o esteroides, con la reacción de Shinoda el cambio de color de amarillo a roja indica la presencia de flavonas y flavonoles, color rojo presencia de flavanonas.²⁰ En la prueba de Benedict para los azúcares reductores dan un precipitado de color rojo ladrillo, en la prueba de Liebermann-Burchad para los triterpenos y/o esteroides dan un color verde oscuro^{20,45} (Tabla 1 y anexo 6).

En las pruebas químicas realizadas de los compuestos fenólicos aislados (Tabla 2 y Anexo 8), fueron diferenciadas por las pruebas de FeCl₃ al 1%, con KMnO₄ y DPPH, en la prueba química con FeCl₃ al 1 % se produjo un color verde oscuro identificándose presencia de grupos fenólicos en abundante concentración. La prueba química con KMnO₄ produce un cambio de coloración y un precipitado intenso, este cambio de coloración del KMnO₄ se debe a que ésta se reduce debido a la acción de los compuestos.²⁵ En la prueba química con DPPH se observa la decoloración del radical libre, debido a que el radical libre tiene un electrón desapareado y es de color violeta decolorándose a amarillo cuando reacciona con los compuestos fenólicos que pueden donar un átomo de hidrogeno.^{49,50} Dado que todas las reacciones son positivas podemos afirmar que los compuestos fenólicos de *Erodium cicutarium* (L) L` Her tiene propiedades antioxidantes.

En la cromatografía en capa fina; el procedimiento para la separación e identificación de compuestos fenólicos, se desarrolló utilizando como sistema de solventes el BAW (butanol: ácido acético: agua; 4: 1: 5). Las proporciones que se utilizaron permiten separar los compuestos fenólicos de otros compuestos.⁵¹

En la tabla 3 y anexo 9, se observa la presencia de fluorescencias de color marron, azul celeste y amarillo a la luz del espectro ultravioleta visible (UV/vis), de lo cual se deduce que se trata de tres compuestos fenólicos diferentes, cuando se revela a la misma placa con cloruro férrico al 1 % y DPPH (Anexo 10), se observan manchas de color marrón y amarillo a la luz visible. Estas fluorescencias de color amarillo, azul celeste y marron a la luz UV/vis indican que se trata de compuestos fenólicos.²⁰ Por lo tanto, se podría tratarse de flavonoides y ácidos fenólicos.²⁰ Estudios realizados de la *Erodium cicutarium* (L) L`Her determinaron la presencia de ácidos fenólicos como: polifenoles (ácidos: brevifolin-carboxílico, ácidos: elágico, gálico, protocatequico; metilgalato y

geraniina) algunos de ellos con propiedades antibacterianas, así como dépsidos.⁵²

Para la caracterización de los compuestos fenólicos se realizó con la espectroscopia ultravioleta, lográndose separar de la fracción de acetato de etilo tres bandas (F1, F2 y F3). La fracción F1 corresponde a un compuesto fenólico (flavonoide) con una fluorescencia marrón oscuro y muestra una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 340 nm, la fracción F2 corresponde a un compuesto fenólico (ácido fenólico) con una fluorescencia azul celeste y muestra una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 255 y 277 nm, F3 corresponde a un compuesto fenólico (flavonoide) con una fluorescencia amarillo que muestra una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 270 y 360 nm (Tabla 4) (Anexo 12). Los estándares utilizados fueron: ácido benzoico con una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 230 y 270 nm y ácido tánico con una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 220 y 272 nm (Tabla 4) (Anexo 13).

En un estudio realizado se aisló y se identificó a partir de las partes aéreas de *Erodium cicutarium* (L) L'Her, junto con los compuestos esenciales tales como: ácido galoilshikimico con una absorbancia en UV/vis (MeOH): λ max = 215, 277 nm, metil galato 3-O- β -D-glucopiranosido con una absorbancia en UV/vis (MeOH): λ max = 220, 268 nm, dihidrogeraniina con una absorbancia en UV/vis (MeOH): λ max = 221, 280 nm, corilagin con una absorbancia en UV/vis (MeOH): λ max = 217, 270 nm, erodiol con una absorbancia en UV/vis (MeOH): λ max = 210, 261, 299 nm, geraniina con una absorbancia en UV/vis (MeOH): λ max = 220, 280 nm y quercetin 3-O-(6"-O-galoil)- β -D-galactopiranosido (hiperin - 6"-galato) con una absorbancia en UV/vis (MeOH): λ max = 259, 270 sh, 360 nm; (MeOH+MeONa): λ max = 273, 326, 411 nm; (MeOH+AlCl₃): 275, 308 sh, 420, 440; (MeOH+AlCl₃+HCl): λ max = 270, 300 sh, 385, 415 nm; (MeOH+NaOAc): λ

max = 273, 370 nm; (MeOH+NaOAc+H₃BO₃): λ max = 264, 297 sh, 380 nm.¹⁷

Todos estos datos son similares a los reportados en el presente trabajo por lo tanto podemos asumir que los compuestos fenólicos aislados podrían corresponder a uno de los ácidos fenólicos o flavonoides mencionados.

En la figura 07 y anexo 14, se muestra que los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her, demostraron tener actividad antioxidante al captar el radical libre DPPH. Esta capacidad antioxidante de estos compuestos se debe principalmente a sus propiedades redox, el cual les permite actuar como agente reductor donante de hidrogeno, desactivadores de hidrogeno quelantes de metales, además depende de su estructura individual y del número de hidroxilos sustituyentes.⁴⁸ Las concentraciones de 10 µg/ml tuvo una actividad antioxidante del 57.17 %, los de 50 µg/ml en un 95.16 % y los de 100 µg/ml en 96.18 %, y los estándares ácido caféico y ácido ascórbico en 97.2 % y 97,61%. Si comparamos el porcentaje de secuestro del radical libre de los estándares con los compuestos fenólico aislados podemos decir que las concentraciones de 50 µg/ml y 100 µg/ml de compuestos fenólicos tiene una actividad antioxidante ligeramente inferior a los estándares. La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos depende de su estructura molecular, la cual influye en la facilidad con la que un átomo de hidrogeno de un grupo hidroxilo aromático puede ser donado a un radical libre y en la habilidad de un fenol de soportar un electrón no apareado.⁵² La vitamina C es un poderoso antioxidante hidrosoluble, inhibe la oxidación de los lípidos, actúa contra las enfermedades cardiacas, cáncer y otros trastornos degenerativos.⁵³

El análisis de varianza factorial demostró que existe diferencia estadística entre la actividad secuestradora de los compuestos fenólicos, ácido caféico y ácido ascórbico (Anexo 14 y 15). En un estudio realizado se evaluó la actividad antioxidante de algunas especies gerianaceae por el método de DPPH del

extracto metanólico al 80% obteniéndose como resultados, *Geranium macrorrhizum*, *Gernium sanguineum*, *Geranium pyrenaicum*, *Geranium robertianum* ubicó como los cuatro primeros extractos de plantas más activas, mostraron una fuerte actividad en los radicales DPPH con el IC50 determinado valores de 10,58; 11,93; 13,61; 14,93 g/ml demostrando que los extractos de las especies Gerianaceae son prometedoras fuentes de antioxidantes naturales.⁵⁴

En la figura 8, los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja", muestra una CL₅₀ de 29.6744 ppm, con un límite superior al 95% de 83.5863 y un límite inferior al 95% de 10.5349, demostrando que es un extracto con una elevada bioactividad, es decir, que contiene sustancias químicas bioactivas, puesto que un extracto con un CL₅₀ <1000 ppm son considerados bioactivos.^{48, 55}

VI. CONCLUSIONES

1. Los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" tienen actividad antioxidante.
2. El extracto etanólico de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja", contiene metabolitos secundarios como son: flavonoides, taninos, azúcares reductores, fenoles, catequinas y terpenoides.
3. Se aislaron tres compuestos fenólicos: dos flavonoides y un ácido fenólico de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja".
4. Los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" tienen actividad antioxidante, donde las concentraciones de 50 µg/ml y 100 µg/ml demostró tener actividad antioxidante superior al 90% y la concentración de 10 ug/ml superior al 50%.
5. Los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" tienen una buena bioactividad con un $CL_{50} = 29,6744$

VII. RECOMENDACIONES

1. Proseguir con el estudio antioxidante de los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" cuantificando cada uno de los componentes por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).
2. Realizar formulaciones en presentaciones farmacéuticas (capsulas, sobres, cremas) para su empleo como sustancia antioxidante.
3. Realizar estudios de toxicidad aguda y crónica en animales de experimentación

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Devasagayam TPA, Tilak JC, Bolor KK, Sane K, Ghaskadbi S, Lele RD. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. JAPI [revista en internet]. 2004 [acceso Mayo de 2013] Vol. 52: 794804. Disponible en: <http://www.panelamonitor.org/media/docrepo/document/files/freeradicalsand-antioxidants-in-human-health.pdf>.
2. Aruoma O. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. Journal of the American Oil Chemists' Society. [revista en internet]. 1998 [acceso mayo de 2013] 75(2): 199-212. Abstract. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007/s11746-998-0032-9#page-1>.
3. Rodrigo R. Oxidative stress and antioxidants: their role in human disease. Nova Science Publishers, Inc. New York – USA [revista en internet] 2009. [acceso mayo de 2013]. Disponible en: <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ars.2008.2146>.
4. Inocente C. Actividad antioxidante y antimicrobiana de los compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Triplares americana* L (tangarana colorada). [Tesis pre grado]. Lima-Perú. UNMSM; 2009.
5. Cruzado M, Pastor A, Castro N. Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de *Cynara scolymus* L. Rev. Soc. Quim. Perú. [revista en internet]. 2013 [acceso mayo de 2013] v.79 n.1. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810634X2013000100008&script=sci_arttext.
6. Moyano A, Paola G. Estudio de la composición química y la actividad antioxidante de aceites esenciales y extractos aislados de *Salvia officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* y *Lippia citriodora*. [Tesis de Maestría]. Universidad Industrial de Santander; 2012.
7. Aguilar Felices E. Estudio de los flavonoides aislados de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) y determinación de su actividad antioxidante e inmunológica [Tesis de Maestría]. Lima. UNMSM; 2006.
8. Jung H.; Kim J.; Chung H. y Choi J. Inhibitory Activity of Flavonoids from *Prunus davidiana* and Other Flavonoids on Total ROS and Hydroxyl Radical Generation. Arch Pharm Res [revista en internet] 2003. [acceso junio 2013]; 26(10):809-815. Disponible en: <http://repositorio.uis.edu.co/jspui/handle/123456789/7394>.
9. Zhao X, Yin H. Simultaneous determination of four acids active compounds in *Erodium stephanianum* by RP-HPLC. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi [revista en internet] 2011. [acceso junio 2013]; 36 (22): Abstract 3137-40. Disponible en: <http://europepmc.org/abstract/MED/22375394>.
10. Gohar AA, Lahloub ME, Niwa M. Antibacterial polyphenol from *Erodium glaucophyllum*. Z Naturforsch C [revista en internet] 2003. [acceso junio de 2013]; 58(9-10): 670-4. Abstract. Disponible en: <http://www.znaturforsch.com/ac/v58c/s58c0670.pdf>.
11. Hadidi M, Fayed A, Naggat S. Systematic Revision of *Erodium* (Geraniaceae) in Egypt. Pl. Syst. Evol [revista en internet] 1984. [acceso en junio de 2013]; 144, 307- 314. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00984140?LI=true>.

12. Gloria E. Barboza. Herbario MCNS, Facultad de Ciencias Naturales Universidad Nacional de Salta Buenos Aires 177-4400 Salta-República Argentina ISSN0327-506X. [revista en internet] 2012. [acceso julio 2013]; Vol. 07 N°7. Disponible en:
<http://dl.dropboxusercontent.com/u/58041417/Novara/Volumen7/PDFs/7-Geraniaceae.pdf>.
13. Eliana Linares P. Revista Chilena de flora y vegetación, Etnobotánica de transecto Yura-Chivay, Universidad San Agustín, Arequipa Perú. [revista en internet] 2011. [acceso agosto 2013] disponible en:
<http://www.chlorischile.cl/linares/linares.htm>.
14. Mostacero, J; Mejía, F. Taxonomía de fanerógamas peruanas. Editorial Libertad EIRL. Trujillo – Perú. 1993.
15. Torres, O. Etnomedicina en la sierra central peruana. Instituto Nacional de Cultura Departamental de Junín. Huancayo-Perú. 1985.
16. Radulović N, Dekić M, Stojanovic-Radić Z, Palić R. Volatile constituents of *Erodium cicutarium*(L.) L' Hérit. (Geraniaceae). Central Europe an Journal of Biology [revista en internet] 2009. [acceso mayo 2013]; 4(3): 404-410. Abstract. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.2478/s11535-009-0026-0>.
17. Fecka I, Kowalczyk A, Cisowski W. Phenolic acids and depsides from some species of the *Erodium* genera. Z Naturforsch C [revista en internet] 2001. [acceso junio de 2013]; 56 (11-12): 943-50. Abstract. Disponible en:
<http://www.znaturforsch.com/ac/v56c/56c0943.pdf>.
18. Lis-Balchin MT y Hart SL. A Pharmacological Appraisal of the Folk Medicinal Usage of *Pelargonium grossularioides* and *Erodium cicutarium*. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants [revista en internet] 1994. [acceso junio de 2013]; 2(3):41-48. Disponible en:
http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1300/J044v02n03_06#_Uhlz3_rRYpw.
19. Sroka Z, Rzadkowska Bodalska H, Mazol I. Antioxidative effect of extracts *Erodium cicutarium* L. Z Naturforsch [revista en internet] 1994. [acceso junio 2013];C,49(11-12);881884.Disponible en:
www.iqb.es/cbasicas/farma/farma06/plantas/pa50sm.htm.
20. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. Métodos en el Estudio de los Productos Naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2da Edición. Fondo Editorial; 1994.
21. Echavarría B, Franco A, Martínez A. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de Macroalgas del Caribe de Colombia. VITAE, Rev. de la Facultad de Química Farmacéutica [revista en internet] 2009. [acceso marzo 2013]; 16(1): 126-131.Disponible en:
<https://www.cenam.mx/simposio2009/sm2009/compuestosfenolicos/M2/SM2009-M220-1108.pdf>.
22. Rice Evans C, Packer L. Flavonoids in Health and disease. 2ª Edition. Marcel Dekker, Inc. USA. 2003.
23. Martinez I. Manual de Fitoterapia. Elsevier Doyma S.L. MASSON. Barcelona- España. 2007.

24. Iglesias J. Diseño de ingredientes antioxidantes de origen natural y su aplicación en la estabilización de productos derivados de pesca. [Tesis de doctorado]. España. USC; 2009.
25. Villar del Fresno, A. Farmacognosia General. Editorial Síntesis. España. 1999.
26. Bruneton J. Plantas medicinales Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Primera edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza - España. 2001.
27. Criado C, Moya M. Vitaminas y antioxidantes. Servicio de Medicina Interna y Urgencias. Ed. Sanidad y Ediciones, S.L. Barcelona. actuaciones el médico; 2009.
28. Troncoso L. Efecto del absorbato sobre la ruptura de los puentes disulfuro. [Tesis de Maestría]. Lima Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1996.
29. Finkel T. y Holbrook N. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature. USA [revista en internet] 2000. [acceso febrero 2013]; 408: 239-247. Disponible en: <http://www.co2sciencie.org/articles/V4/N3/B2.php>.
30. Rodríguez J, Menéndez J. Trujillo Y. Radicales libres en la biomédica y estrés oxidativo. Rev. Med. Milit "DR. Luís Díaz Soto". Cuba. [revista en internet] 2001. [acceso febrero 2013]; Vol 30(1): 36-44. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol30_1_01/.pdf mil07100.
31. Cheeseman K, Slater T. Free Radicals in Medicine. British Medical Bulletin [revista en internet] 1993. [acceso febrero 2013]; Vol. 49(3), pp. 481-491. Disponible en: <http://bmb.oxfordjournals.org/content/49/3/481.abstract>.
32. Turrens J. Fuentes intracelulares de especies oxidantes en condiciones normales y patológicas. Biomedical Sciences. USA [revista en internet] 2006. [acceso febrero 2013]; 1:16-18. Disponible en: <http://www.antioxidantes.com.ar/Art006.htm>.
33. Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Editorial Atenea. 2006.
34. Burneo Z. Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de los extractos totales de doce especies vegetales nativas del sur del Ecuador. [Tesis pre grado]. Ecuador. UTPL; 2009.
35. Venereo J. Daño Oxidativo, Radicales libres y Antioxidantes. Revista Cubana Med. Milit. [revista en internet] 2002. [acceso febrero 2013]; 31(2): 126-133. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol31_2_02/MIL09202.pdf.
36. Halliwell B, Gutteridge J. Free Radicals in Biology and Medicine. Tercera edición. Editorial Oxford: Oxford University Press. 1999.
37. Ríos M. El estrés oxidativo y el destino celular. Revista Química Viva. Argentina. [revista en internet] abril 2003. [acceso febrero 2013]. Vol. 2(1): 17-8. Disponible en: <http://www.quimicaviva.qb.far/Actualizaciones/estresoxidativo.htm>.
38. Halliwell B. Los radicales libres de oxígeno, la toxicidad y el envejecimiento. Pigmentos de edad. Ed. Elsevier. Norte - Holland. Amsterdam. 1981.

39. Velásquez M, Prieto B, Contreras R. El envejecimiento y los radicales libres. *Revista Ciencias de la UNAM*. [revista en internet]. Julio-setiembre 2004. [acceso diciembre 2012]; Vol. 75(1): 36-43. Disponible en: http://www.alumno.unam.mx/algo_leer/Envejecimiento.pdf.
40. Mahantesh SP, Gangawane AK, PATIL CS. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines in human health: future perspects. *World Research Journal of Medicinal & Aromatic Plants* [revista en internet] 2012.[acceso junio 2013];Volume 1(1):06-10. Disponible en: http://www.bioinfo.in/uploadfiles/13470966551_1_2_WRJMAP.pdf.
41. López A, Fernando C, Lazarova Z, Bañuelos R, Sánchez S. Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades. *Revista Anacem*. [revista en internet] junio 2012. [acceso diciembre 2012]; Vol. 6(1): 48-51. Disponible en: <http://revista.anacem.cl/web/?p=1096>.
42. Valdés J, Brugueras M. El Estrés Oxidativo y los Antioxidantes. *Tendencias de Salud en Cuba*. Departamento de Información. 2000.
43. Siquet C, Paiva – Martins F, Lima J, Reis S, Borges F. Antioxidant profile of dihydroxy-and thihydroxy phenolic acids-A structure-activity relationship study. *Free Radical Research*. [revista en internet] 2006. [acceso diciembre 2012]; Vol. 40(4): 433-442. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16517509>.
44. Decker E. Fenoles. Prooxidantes y antioxidantes. *Revista Nutricional de España*. [revista en internet] 1997. [acceso diciembre 2012]; Vol. 12 (3): 45-62. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2001/8-Exactas/E-019.pdf>.
45. Miranda M, Cuellar A. *Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales*, Universidad de la Habana Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba. 2000.
46. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Sangklanakarín J. sci. technol.* [revista en internet] 2003. [acceso febrero 2013]; 26(2): 211-219. Disponible en: <http://rdo.psu.ac.th/sjstweb-old/journal/26-2/07-DPPH.pdf>.
47. CYTED. *Manual de técnicas de investigación*. Revista Iberoamericana de Ciencias y Tecnología. Madrid 1995.
48. Banerjee S, Bonde C. Total phenolic content and antioxidant activity of extracts of *Bridelia Retusa Spreng Bark*: Impact of dielectric constant and geographical location *Journal of medicinal plants research*. [revista en internet] 2011. [acceso febrero 2013]; Vol. 5(5). 817-822. Disponible en: <http://www.academicjournals.org/jmpr/pdf2011/4Mar/Banerjee0Bonde.pdf>.
49. Castañeda, B., Ramos, E., Ibáñez, L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Horizonte Médico* [revista en internet]. 2008 [acceso Febrero de 2013]; Vol. 8 N°1. Disponible en: <http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2008-I/Art4-Vol8-N1.pdf>.
50. Gutiérrez M, Ortiz C, Mendoza C. Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimento animal. *Simposio de Metrología* [revista en internet] 2008. [acceso febrero 2013]; Vol. 1(1). Disponible en: https://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf.
51. Cheeseman K, Slater T. Free Radicals in Medicine. *British Medical Bulletin* [revista en internet] 1993. [acceso febrero 2013]; Vol. 49(3), pp. 481-491. Disponible en: <http://bmb.oxfordjournals.org/content/49/3/481.abstract>.

52. Calderón P. Determinación de las propiedades antioxidantes del jugo de naranja comercial sometido a distintas condiciones de almacenamiento. [Tesis de Pregrado]. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia; 2007.
53. Criado Dabrowska C, Moya Mir M. vitaminas y antioxidantes. Servicio de Medicina Interna y Urgencias. Ed. Sanidad y Ediciones, S.L. Barcelona. actuaciones el médico; 2009.
54. Nicolova M. evaluación de la actividad antioxidante en algunas especies Gerianaceae. Instituto de Botánica de la Academia Búlgara de Ciencias [revista en internet] 2010. [acceso junio 2013]; UDK 615.322:582.751.2; 582.751. disponible en: http://botanicaserbica.bio.bg.ac.rs/arhiva/pdf/2010_34_2_518_full.pdf.
55. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Editorial Universitaria. Universidad San Carlos de Guatemala. 1996.

ANEXOS

Anexo 1

Tabla 5. Certificado de identificación taxonómica



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, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Reyna Isabel, CCALLOCUNTO NÚÑEZ, 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	:	ROSIDAE
ORDEN	:	GERANIALES
FAMILIA	:	GERANIACEAE
GENERO	:	Erodium
ESPECIE	:	<i>Erodium cicutarium</i> (L) L' Her.
N.V.	:	"auja auja"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 22 de Octubre del 2012

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

BIOLOGO JESUS ALVARO
JEFE

Anexo 2

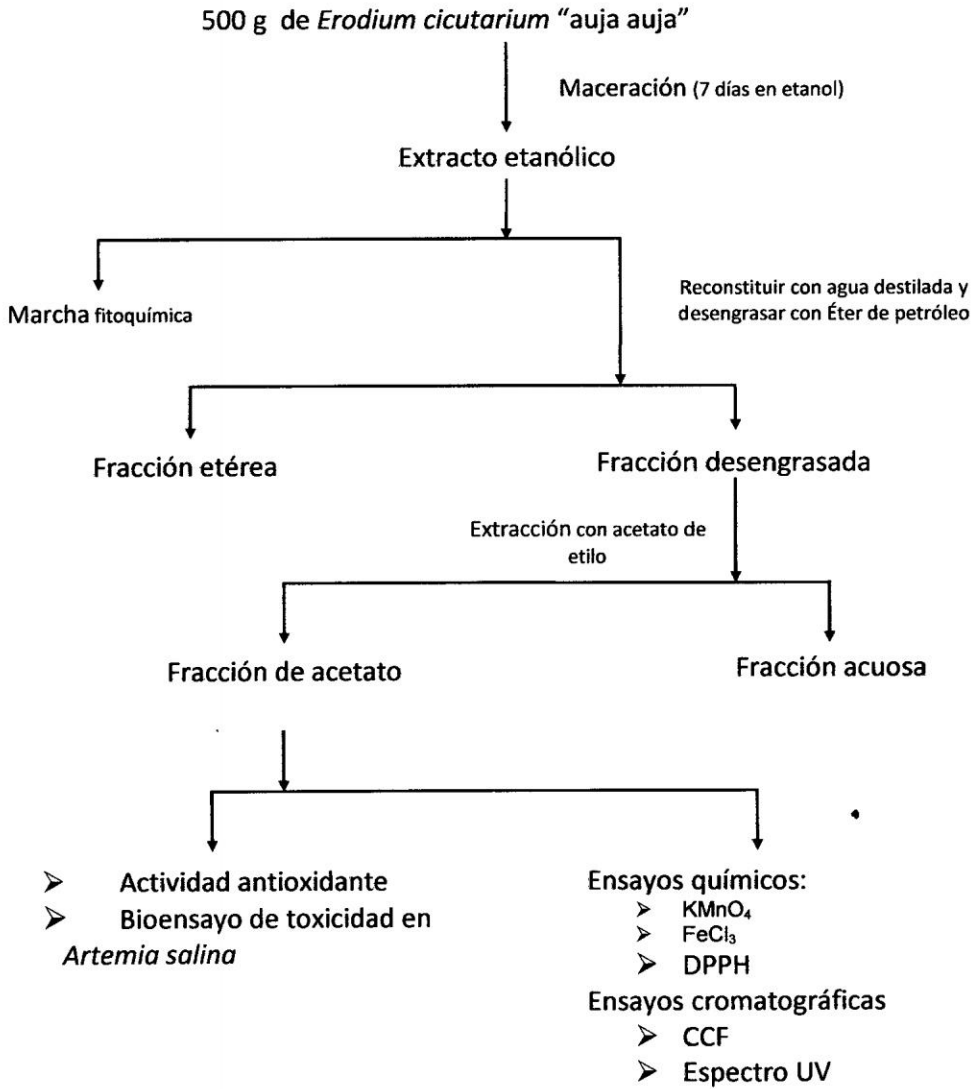


Figura 9. Flujograma en obtención de los compuestos fenólicos

Anexo 3

Tabla 6. Características de los metabolitos secundarios de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja"

Metabolitos Secundarios	Ensayos con Reactivos	Observación
Alcaloides	Dragendorff Mayer Hager Wagner	Hay formación de precipitado en todas las reacciones.
Lactonas Cumarinas	Baljet	Formación de una coloración roja.
Flavonoides	Shinoda	Hay coloración amarilla, naranja, carmelita o rojo en la fase amilica.
Quinonas	Borntrager	Si es positivo la fase amoniacal es de color rojizo o rosada.
Catequinas	Catequinas	Coloración verde carmelita a luz UV, indica un ensayo positivo.
Saponinas	Espuma	Si es positivo hay formación de espuma en la superficie.
Azucares reductoras	Benedict	Si es positivo hay formación de precipitado rojo ladrillo.
Taninos y Fenoles	Cloruro Férrico	Formación de una coloración negruzca.
Aminas (aminoácidos)	Ninhidrina	Hay coloración violeta.
Cardenólidos	Kedde	Coloración violácea.

Anexo 4



Figura 10. Recolección de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" Ayacucho - 2012

Anexo 5



Figura 11. Equipo de rotavapor para la concentración del extracto etanólico de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" Ayacucho – 2012.

Anexo 6

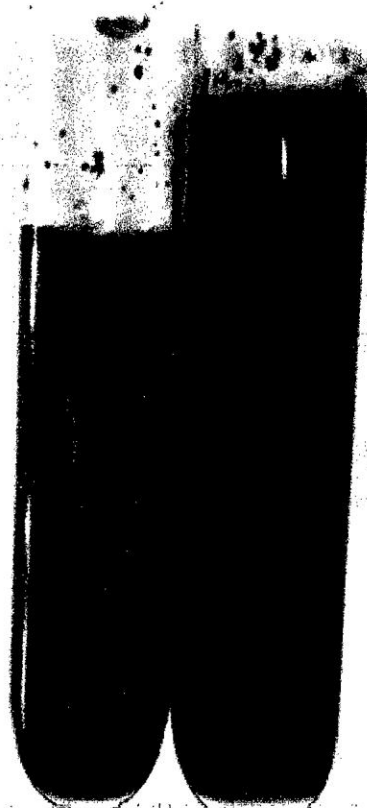


Figura 12. Tubos de ensayo del tamizaje fitoquímico y reacción de Shinoda del extracto etanólico de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" Ayacucho - 2012

Anexo 7

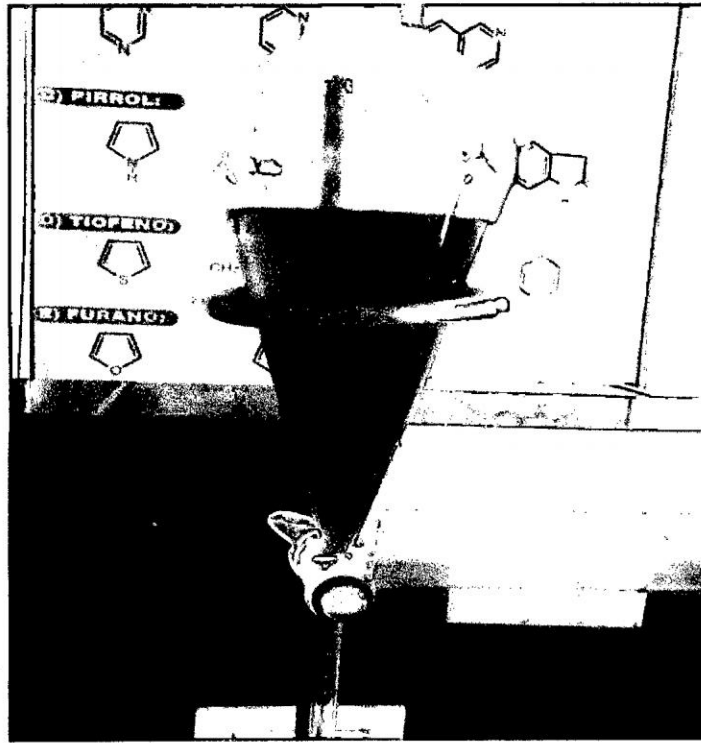


Figura 13. Equipo de extracción líquido - líquido de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" Ayacucho - 2012

Anexo 8

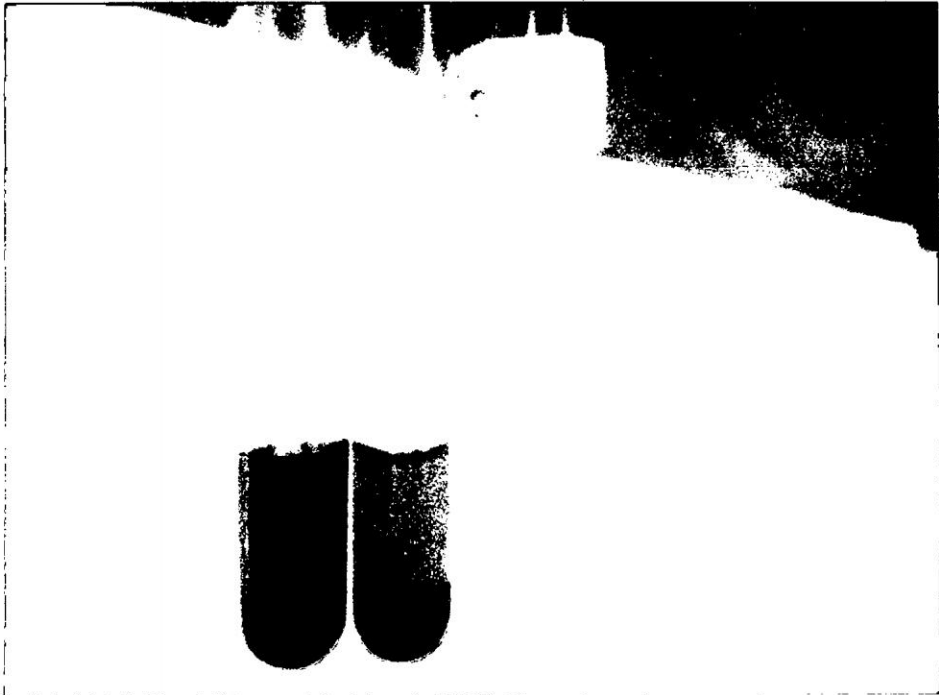


Figura 14. Pruebas químicas de los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" Ayacucho - 2012

Anexo 9

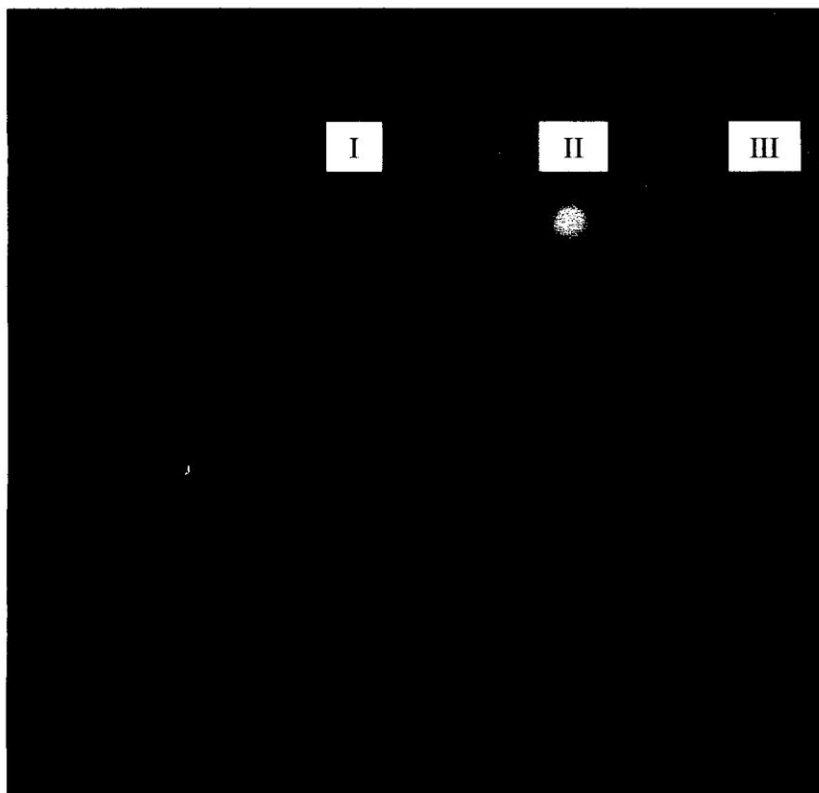


Figura 15. Cromatografía en capa fina de los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her (I), quercetina (II) y ácido cafeico (III) revelados con luz ultravioleta

Anexo 10



Figura 16. Cromatografía en capa fina de los compuestos fenólicos de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" revelados con cloruro férrico al 5% (I) y DPPH (II).

Anexo 11

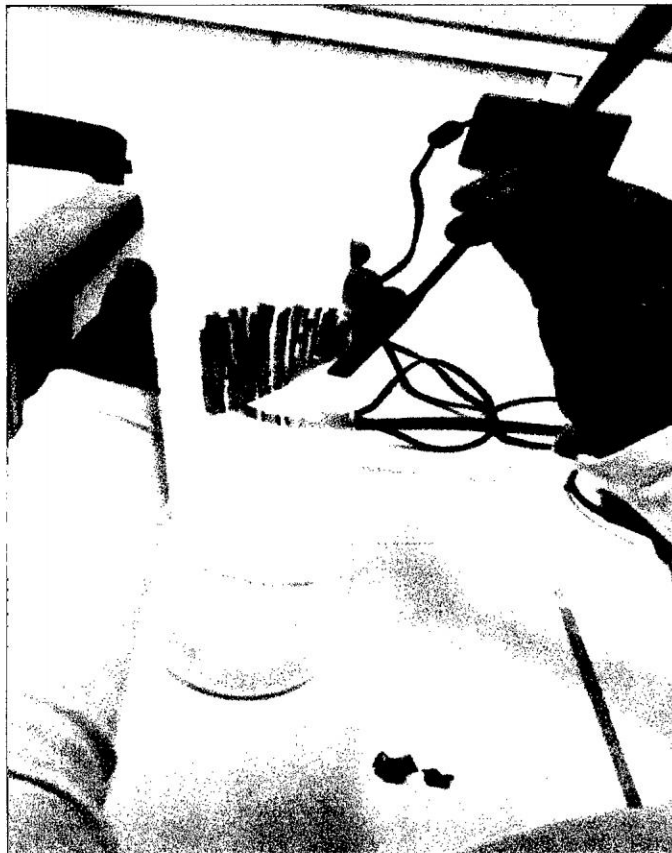


Figura 17. Cromatografía en capa fina preparativa y recuperación de fracciones de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" Ayacucho - 2012

Anexo 12

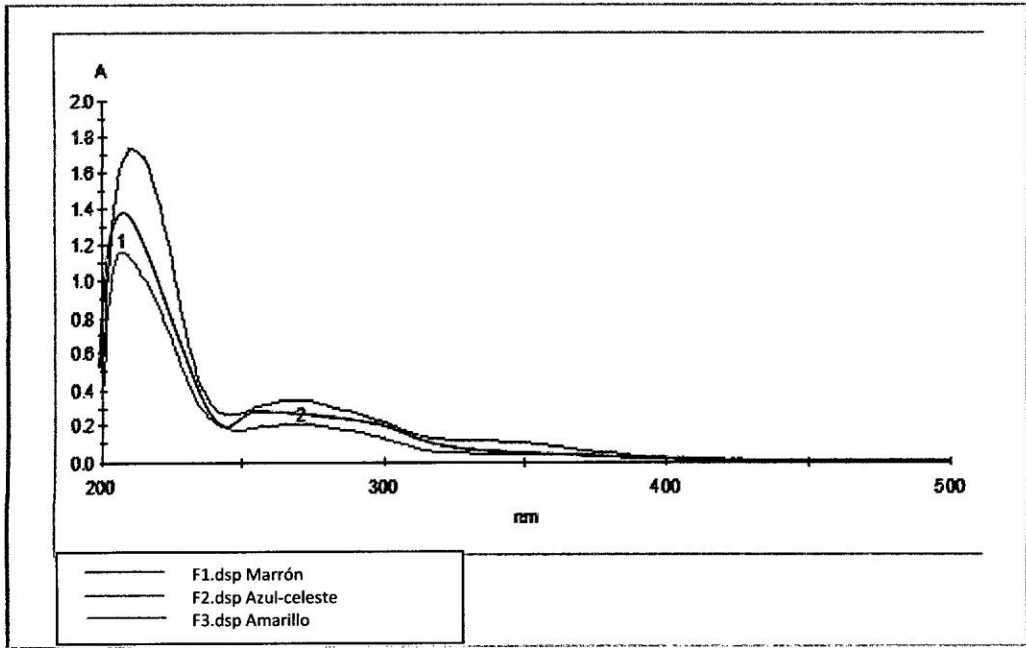


Figura 18. Curva espectral de las facciones F1, F2 y F3 aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" Ayacucho – 2012.

Anexo 13

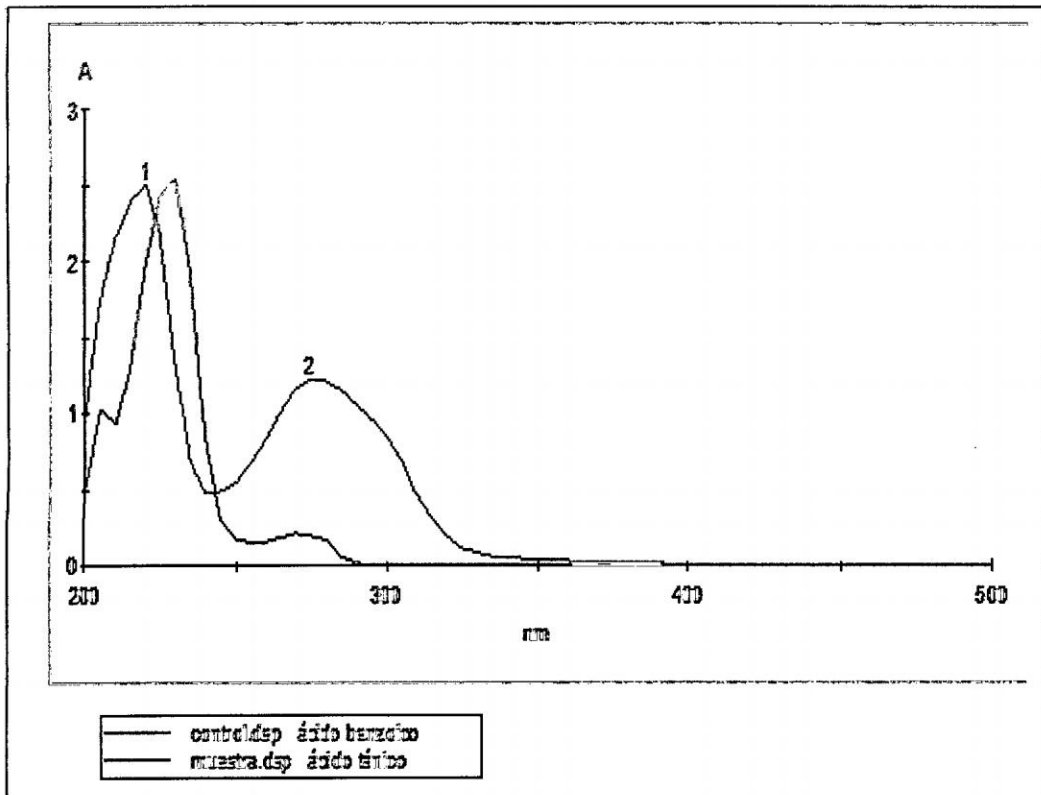


Figura 19. Curva espectral de los estándares ácido benzoico y ácido tánico

Anexo 14

Tabla 7. Porcentaje de la actividad secuestradora del DPPH según tratamientos

epeticiones	Estándares								
	Ácido caféico			Vitamina C			Compuestos fenólicos		
	100 µg/ml	50 µg/ml	10 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml	10 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml	10 µg/ml
1	97,29	97,29	97,29	97,29	97,46	97,29	95,8	94,80	57,53
2	97,29	97,29	97,12	97,63	97,63	97,80	96,0	94,98	57,35
3	96,66	97,46	97,12	97,63	97,97	97,80	96,5	95,70	56,63
Promedio	97,08	97,34	97,18	97,51	97,68	97,63	96,1	95,16	57,17
D.E	0,36	0,10	0,10	0,20	0,26	0,29	0,37	0,47	0,47

Anexo 15

Tabla 8. Análisis de varianza del porcentaje de la actividad secuestradora del DPPH

			Método único				
			Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig
Captacion de radical libre (%)	Covariables	Concentraci ón (µg/ml)	752,591	1	752,591	7,814	0,10
	Efectos principales	Tratamient os	1274,563	2	637,281	6,617	0,005
	Modelo		2027,154	3	675,718	7,016	0,002
	Residual		2215,226	23	96,314		
	Total		4242,379	26	163,168		

- a. Actividad secuestradora del DPPH (%) por tratamientos con concentración (µg/ml)
- b. Todos los efectos introducidos simultáneamente

ANEXO 16
Tabla 9 Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L'Her "auja auja". Ayacucho – 2012.	¿Cuál será la actividad antioxidante de las diferentes concentraciones de los compuestos fenólicos aislados de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L'Her "auja auja"?	<p>Objetivo general: Evaluar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L'Her "auja auja".</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L'Her "auja auja". • Aislar los compuestos fenólicos presentes en <i>Erodium cicutarium</i> (L) L'Her "auja auja" y caracterizar mediante técnicas químicas y espectrales. • Evaluar el efecto antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en <i>Erodium cicutarium</i> (L) L'Her "auja auja" sobre los radicales libres de DPPH. • Evaluar la bioactividad de los compuestos fenólicos <i>Erodium cicutarium</i> (L) L'Her "auja auja" sobre <i>Artemia salina</i>. 	<p>-Antecedentes</p> <p>-<i>Erodium cicutarium</i> (L) L'Her "auja auja"</p> <ul style="list-style-type: none"> • Clasificación taxonómica. • Descripción botánica. • Nombres populares. • Distribución geográfica. • Usos en la medicina tradicional. • Composición química. • Estudios farmacológicos. <p>-Compuestos fenólicos.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ácidos fenólicos. • Flavonoides. • Propiedades biológicas de compuestos fenólicos. <p>-Radicales libres</p> <ul style="list-style-type: none"> • Fuentes de los radicales libre. • Especies reactivas del oxígeno (ERO). • Estrés oxidativo. <p>-Antioxidantes.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Clasificación de los antioxidantes. • Mecanismo antioxidante de los compuestos fenólicos. 	Los compuestos fenólicos aislados de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L'Her "auja auja" a diferentes concentraciones tienen actividad antioxidante.	<p>Variable independiente: Compuestos fenólicos de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L'Her "auja auja"</p> <p>Indicador: Concentraciones de 10, 50 y 100 µg/mL.</p> <p>Variable Dependiente: Actividad antioxidante.</p> <p>Indicadores: Porcentaje de la actividad secuestradora de DPPH.</p>	<p>-Tipo de estudio: Básico - Experimental</p> <p>-Población: Plantas de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L'Her "auja auja" que crecen en el distrito de Chuschi, provincia de Cangallo, Región Ayacucho.</p> <p>-Muestra: dos Kg planta entera de <i>Erodium cicutarium</i> (L) L'Her "auja auja".</p> <p>-Diseño metodológico para la recolección de datos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Preparación del extracto etanólico de <i>Erodium Cicutarium</i> • Tamizaje fitoquímico • Extracción e identificación de los compuestos fenólicos • Determinación de la actividad antioxidante: Actividad secuestradora del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo, DPPH (Aguilar, 2007) • Bioensayo de toxicidad en <i>Artemia salina</i> (CYTED, 1995) <p>-Análisis de datos. Los resultados de la actividad antioxidante serán representados en forma de gráficos en función de las medias. Las diferencias entre las medias serán contrastadas mediante el análisis de Varianza Factorial (ANOVA) a un nivel de confianza del 95%. Los datos de la bioactividad en <i>Artemia salina</i> fueron analizados utilizando un programa de computadoras para cálculo de Probits que permitió determinar los valores de Concentración letal 50 (CL50).</p>

Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja". Ayacucho – 2012.

Reyna Isabel Ccallocunto Núñez¹, Enrique Aguilar Felices¹.
¹Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

RESUMEN

El estrés oxidativo está asociado con patologías de altas incidencias en el hombre, entonces la búsqueda de antioxidantes naturales reviste una extraordinaria importancia. El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de determinar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" durante los meses de octubre 2012 a marzo 2013. La muestra fue recolectada en el distrito de Chuschi, provincia de Cangallo, departamento de Ayacucho, obteniéndose los compuestos fenólicos a partir de un extracto etanólico y utilizando solventes de diferente polaridad, así mismo, se sometió a un tamizaje fitoquímico, complementando con las pruebas cromatográficas en capa fina y UV visible, la actividad antioxidante mediante el ensayo de captación del radical libre, 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) y la bioactividad en *Artemia salina* mediante la prueba de dosis límite. Los metabolitos secundarios hallados fueron: compuestos fenólicos, quinonas, catequinas, saponinas, azúcares reductores y taninos. En la fracción de acetato de etilo los compuestos fenólicos caracterizados fueron dos flavonoides y un ácido fenólico. Los compuestos fenólicos demostraron tener actividad secuestradora del radical libre DPPH que fue de (96,18) a la concentración de 100 ug/ml, comparable al ácido caféico (97,08%) y el ácido ascórbico (97,51%).

Se concluye que los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her demostraron tener actividad antioxidante.

Palabras clave: *Erodium cicutarium* (L) L' Her, compuestos fenólicos, antioxidante.

SUMMARY

Oxidative stress is associated with diseases of high incidences in the man, then the search for natural antioxidants is of extraordinary importance. The present research work was carried out in order to determine the antioxidant activity of phenolic compounds isolated from *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" during the months from October 2012 to March 2013. Sample was collected in the District of Chuschi, province of Cangallo, Ayacucho Department, obtained from an ethanolic extract phenolic compounds and using solvents of different polarity, also underwent a phytochemical screening, complemented by layer chromatographic tests fine and free UV visible, the antioxidant activity by radical recruitment testing1, 1-diphenyl-2-picrilhidrazilo (DPPH) and bioactivity in *Artemia salina* with a test dose limit. They were found secondary metabolites: compounds phenolic, Quinone, catechins, saponins, sugars and tannins. In the ethyl acetate fraction characterized phenolic compounds were two flavonoids and phenolic acid. Phenolic compounds proved secuestradora activity of DPPH free radical that was (96,18) at the concentration of 100 ug/ml, comparable to caffeic acid (97,08%) and Ascorbic acid (97,51%). It is concluded that phenolic compounds isolated from *Erodium cicutarium* (L) L' Her proved to have antioxidant activity.

Key words: *Erodium cicutarium* (L) L' Her, phenolic compounds, antioxidant.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años hay un aumento en las áreas relacionadas con los nuevos avances en la prevención de la enfermedad especialmente el papel de los radicales libres y los antioxidantes.¹ Esta situación es apreciable ya que los mecanismos de los radicales libres han sido implicados en la patología de varias enfermedades humanas, incluyendo el cáncer, la aterosclerosis, la malaria, la artritis reumatoide y las enfermedades neurodegenerativas.² Estas especies reactivas, radicales libres, principalmente se encuentran en estados fisiológicos normales, y pueden ser beneficiosos cuando se producen a niveles bajos. Sin embargo, son perjudiciales en altas concentraciones cuando los sistemas de defensa antioxidantes endógenos se ven abrumados (estrés oxidativo), lo que ha sido implicada en estados de enfermedad.³ En aras de contribuir en la búsqueda de fuentes de antioxidantes naturales hemos seleccionado a la especie *Erodium cicutarium* (L) L' Her endémica en toda la sierra de nuestro país, que por las propiedades terapéuticas reportadas por la medicina folclórica peruana y dado que hay antecedentes científicos de su potencial antioxidante, ofrece un gran interés en su estudio intensivo. En este sentido, con el presente trabajo de investigación se buscó aislar los compuestos fenólicos de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja", por lo que al desarrollar el presente trabajo se persiguió los siguientes objetivos:

Objetivo General:

- Evaluar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja".

Objetivos Específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja".
- Aislar los compuestos fenólicos presentes en *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" y caracterizar mediante técnicas químicas y espectrales.
- Evaluar el efecto antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en *Erodium cicutarium* (L) L' Her. "auja auja" sobre los radicales libres de DPPH.
- Evaluar la bioactividad de los compuestos fenólicos presentes en *Erodium cicutarium* (L) L' Her. "auja auja" en *Artemia salina*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios de Farmacognosia del Área académica de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de octubre del 2012 a marzo del 2013.

Definición de población y muestra

Población: Planta entera de la especie *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja", procedentes del distrito de Chuschi, provincia de Cangallo de la región de Ayacucho.

Muestra: 500 g de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja".

Diseño metodológico para la recolección de datos

Recolección e identificación de la muestra

La planta entera de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" fue recolectada en el distrito de Chuschi, región de Ayacucho a 3850 m.s.n.m. Se seleccionaron la planta adulta e intacta (Anexo 3) y se procedió a su acondicionamiento y traslado en cajas de cartón a los laboratorios del Área de Farmacia de la UNSCH para su secado, pulverización y obtención del extracto etanólico. En la identificación taxonómica se emplearon las hojas, flores, y raíz (planta entera) en el laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas por la Blga. Laura Aucasimi Medina

Preparación del extracto etanólico

Se realizó la maceración de 500 g de planta entera, el material seco y molido fue sometido a maceración durante 7 días con 3 litros de etanol al 96° en un frasco ámbar. Luego se filtró con papel Whatman N° 40 y la solución etanólico fue concentrado a presión y temperatura reducida hasta sequedad en una estufa a una temperatura no mayor de 50 C.

Tamizaje fitoquímico

La caracterización fitoquímica se basó en el agrupamiento de metabolitos estructuralmente semejantes, para identificarlos por su comportamiento químico frente a reacciones estandarizadas. Se realizaron las pruebas de coloración al extracto etanólico de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" que se fundamentan en los cambios estructurales ocasionados en los metabolitos presentes, como aparición o desaparición de una coloración, formación o dilución de un precipitado o desprendimiento de gas.^{4,5}

Extracción de los compuestos fenólicos

El extracto etanólico seco se reconstituyó con agua destilada y se trató con éter de petróleo con la finalidad de eliminar grasas, ceras, pigmentos y otros metabolitos que puedan interferir con la extracción de los compuestos fenólicos.

La extracción líquido-líquido con acetato de etilo se realizó utilizando un embudo de separación, para recuperar finalmente la fracción de acetato de etilo donde se encuentra los compuestos fenólicos.⁶

Identificación de compuestos fenólicos

Pruebas cualitativas. Las fracciones aisladas se sometieron a la identificación de complejos fenólicos con cloruro férrico; identificación de sustancias reductoras con permanganato de potasio y la prueba de decoloración del DPPH.⁵

Cromatografía en capa fina (CCF)

Sistema cromatográfico:

- Fase estacionaria: Placa cromatográfica 20 x 20 conteniendo silicagel G 254.
- Fase móvil: Butanol: ácido acético: agua (4:1:5)
- Volumen de inyección: 20 µl
- Revelador: Luz ultravioleta, cloruro férrico y DPPH.

La fracción de acetato de etilo se disolvió con 0,5 ml de metanol y fue aplicada en la base de la placa cromatográfica con capilares de vidrio. Se llevó a una cubeta cromatográfica que contendría como sistema de solventes BAW (butanol, ácido acético y agua) en una proporción de 4:1:5 (Lock, 1994).⁴ Se retiró la placa y se dejó secar al aire para luego observar bajo lámpara de luz UV. Fue revelado con cloruro férrico 1% y DPPH. Las soluciones estándar que se usaron fueron: ácido cafeico, ácido clorogénico y quercetina. Una parte de la fracción de acetato de etilo se sembró en una placa cromatográfica de 20 x 5 conteniendo silicagel G254 y como sistema solvente butanol: ácido acético: agua (4:1:5). La siembra se realizó en bandas con el propósito de aislar y caracterizar los compuestos fenólicos, los cuales se evidenciaron en la luz ultravioleta. Estas bandas fueron raspadas recuperados, disueltos en metanol y filtrados, obteniéndose 3 bandas.

Pruebas espectrales

Las bandas obtenidas fueron leídas en el espectrofotómetro ultravioleta GENESYS 6, en el rango de 200 a 500 nm, registrándose los máximos picos de absorción (Anexo 12).

Determinación de la actividad antioxidante

Actividad secuestradora del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo.

Fundamento:

Uno de los métodos para determinar la capacidad antioxidante es aquel que emplea al radical DPPH, el cual por su estabilidad es destruido solamente por antioxidantes, de tal manera que el mejor compuesto destructor será el mejor antioxidante. Reacción química en el que el radical libre DPPH sustrae un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (antioxidante), producto de este cambio se desarrolla un cambio de color, de azul-violeta a amarillo, al disminuir la concentración de radical DPPH.⁷

Procedimiento

El ensayo se realizó de la siguiente manera, utilizándose:

- Una solución metanólica de DPPH de 20 µg/l.
- Una solución metanólica del extracto a una concentración de 300 µg/ml (solución A)
- Una solución blanco de metanol: agua (2:1) para ajustar el espectrofotómetro a cero.
- Un blanco de muestra con 0,75 ml de muestra (solución A) más 1,5 ml de metanol.
- Un patrón de referencia con 1,5 ml de DPPH más 0,75 ml de agua destilada.
- La muestra, con 0,75 ml de solución A y 1,5 ml de DPPH obteniéndose una solución final de 100 µg/ml.
- Inmediatamente se dejó a temperatura ambiente por 5 minutos y se realizó la lectura de la absorbancia a 517 nm en el espectrofotómetro.
- Se diluyó la solución A con metanol en una proporción de 1:1 obteniéndose una solución final de 50 µg/ml (solución B) y luego en una proporción de 1:9, para obtener una concentración final de 10 µg/ml (solución C).
- Con la solución B y C se procedió de igual modo que en el paso 7. Para la comparación, el estándar vitamina C, se preparó siguiendo el mismo procedimiento que conllevó a lograr concentraciones de 100 µg/ml, 50 µg/ml y 10 µg/ml. Para los cálculos del porcentaje de actividad antioxidante se emplea la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Secuestro del DPPH} = \frac{Ac - (Am - Ab)}{Ac} \times 100$$

Dónde:

Ac: Absorbancia del DPPH.

Am: Absorbancia de la muestra.

Ab: Absorbancia del blanco

Bioensayo de toxicidad en *Artemia salina*

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 CL₅₀ (concentración letal 50).⁸

Procedimiento:

Se preparó agua de mar, oxigenándose por 1 hora, se agregó 50 mg de huevos de *Artemia salina* y una pizca de levadura a 350 ml de agua marina (3,8 g de sal marina para un litro de agua), colocándose en un lugar con luz artificial por 48 h. Se disolvió 20 mg del extracto en 2 ml de agua de mar, preparándose diluciones de 1000, 100, 10 ppm, por triplicado, se transfirió 500, 50 y 5 µl a tubos, agregó 10 nauplios, completándose a 5 ml con agua de mar y dejó a temperatura ambiente con luz artificial; a las 24 horas se observó el número de sobrevivientes

Análisis de datos

Los resultados de la actividad antioxidante fueron representados en forma de figuras en función de las medias. Las diferencias entre las medias fueron contrastadas mediante el análisis de varianza factorial (ANOVA) a un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$).

En el bioensayo sobre *Artemia salina*, los datos fueron analizados utilizando un programa de computadoras para cálculo de Probits que permitió determinar los valores de Concentración Letal 50 (CL₅₀).

RESULTADOS

Tabla 1: Metabolitos secundarios presentes en extracto etanólico de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja"

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Azúcares reductores	Benedict	++	Precipitado rojo
Catequinas	Catequina	+++	Verde carmelita a luz UV
Lactonas, cumarinas	Baljet	+++	Precipitado rojo
Flavonoides	Shinoda	++	Rojo intenso
Fenoles, taninos	Cloruro férrico	+++	Verde intensa
Triterpenos, esteroides	Liebermann-Burchard	++	Verde oscura

Leyenda:

(+) : Leve
(++) : Moderada
(+++): Abundante

Tabla 2: Características químicas de los compuestos fenólicos de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja"

Ensayos	Resultados	Observaciones
FeCl ₃ 5%	+++	verde oscuro
KMnO ₄	+++	decolora y precipita
DPPH	+++	decolora

Leyenda:

(+) : Leve
(++) : Moderada
(+++): Abundante

Tabla 3: Características cromatográficas de los compuestos fenólicos de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja"

Fracción	Revelador		
	Fluorescencia	FeCl ₃	DPPH
Acetato de etilo	marrón oscuro	Marrón	amarillo
	azul celeste	Marrón	amarillo
	Amarillo	Amarillo	amarillo
Ácido caféico	Celeste	Marrón	amarillo
Quercetina	Amarillo	Marrón	amarillo

Tabla 4: Características espectrales en el espectro ultravioleta de los compuestos fenólicos de *Erodium cicutarium* (L) L' He "auja auja"

Fracción	Sub-fracciones	Ultravioleta (nm)
Acetato de etilo	F1 (marrón)	340 nm
	F2 (azul celeste)	255 nm y 277 nm
	F3 (amarillo)	270 nm y 360 nm
Ácido benzoico		230 nm y 270 nm
Ácido tánico		220 nm y 272 nm

Figura 1. Cromatografía en capa fina de los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" (I), quercetina (II) y ácido cafeico (III)

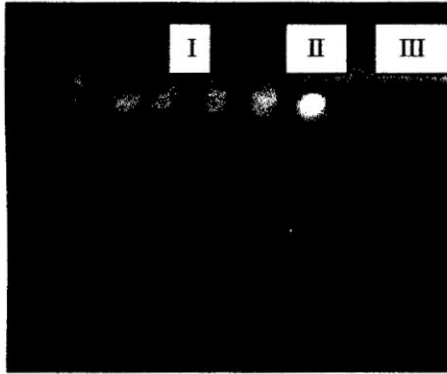


Figura 2. Porcentaje de secuestro del DPPH según tratamientos.

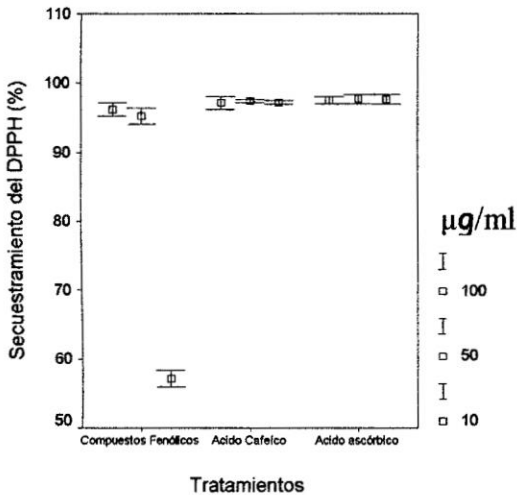
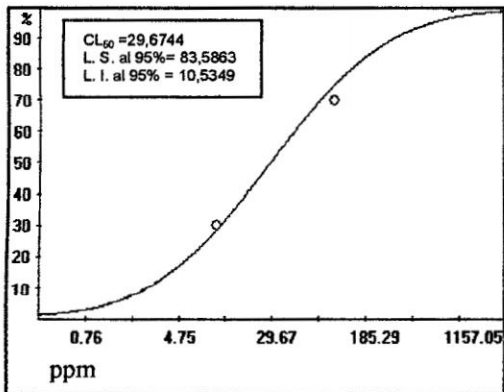


Figura 3. Bioactividad del extracto de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" sobre *Artemia salina*



DISCUSIÓN

Para la extracción de los compuestos fenólicos, se utilizó una secuencia de disolventes con polaridad divergente.⁹ De esta manera se procedió a la extracción de los compuestos fenólicos con diferentes solventes, primeramente con etanol para extracción de los metabolitos secundarios presente en la planta, segundo con el éter de petróleo para poder eliminar las resinas y grasas del extracto, después se extrajo con acetato de etilo para extraer los compuestos fenólicos.⁶

Los metabolitos secundarios encontrados en abundancia fueron: catequinas, cumarinas y fenoles y/o taninos, los compuestos fenólicos pueden ser detectados por el intenso color verde, azul o negro que producen cuando se le agrega el cloruro férrico al 1%. En la prueba de catequina se evidencia por la fluorescencia verde a la luz UV, así mismo, en la prueba de Baljet para identificar cumarinas dan un precipitado de color rojo y en concentraciones moderadas se identificó flavonoides, azúcares reductores y triterpenos y/o esteroides, con la reacción de Shinoda el cambio de color de amarillo a roja indica la presencia de flavonas y flavonoles, color rojo presencia de flavanonas.⁴ En la prueba de Benedict para los azúcares reductores dan un precipitado de color rojo ladrillo, en la prueba de Liebermann-Burchard para los triterpenos y/o esteroides dan un color verde oscuro.^{4,5}

En las pruebas químicas realizadas de los compuestos fenólicos aislados, fueron diferenciadas por las pruebas de $FeCl_3$ al 1%, con $KMnO_4$ y DPPH, en la prueba química con $FeCl_3$ al 1 % se produjo un color verde oscuro identificándose presencia de grupos fenólicos en abundante concentración. La prueba química con $KMnO_4$ produce un cambio de coloración y un precipitado intenso, este cambio de coloración del $KMnO_4$ se debe a que ésta se reduce debido a la acción de los compuestos.¹⁰ En la prueba química con DPPH se observa la decoloración del radical libre, debido a que el radical libre tiene un electrón desapareado y es de color violeta decolorándose a amarillo cuando reacciona con los compuestos fenólicos que pueden donar un átomo de hidrogeno.^{11,12} Dado que todas las reacciones son positivas podemos afirmar que los compuestos fenólicos de *Erodium cicutarium* (L) L' Her tiene propiedades antioxidantes.

En la cromatografía en capa fina, el procedimiento para la separación e identificación de compuestos fenólicos, se desarrolló utilizando como sistema de solventes el BAW (butanol: ácido acético:

agua; 4: 1: 5). Las proporciones que se utilizaron permiten separar los compuestos fenólicos de otros compuestos.¹³

En la tabla 3 y anexo 9, se observa la presencia de fluorescencias de color marrón, azul celeste y amarillo a la luz del espectro ultravioleta visible (UV/vis), de lo cual se deduce que se trata de tres compuestos fenólicos diferentes, cuando se revela a la misma placa con cloruro férrico al 1 % y DPPH (Anexo 10), se observan manchas de color marrón y amarillo a la luz visible. Estas fluorescencias de color amarillo, azul celeste y marrón a la luz UV/vis indican que se trata de compuestos fenólicos.⁴ Por lo tanto, se podría tratarse de flavonoides y ácidos fenólicos.⁴ Estudios realizados de la *Erodium cicutarium* (L) L'Her determinaron la presencia de ácidos fenólicos como: polifenoles (ácidos: brevifolin-carboxílico, ácidos: elágico, gálico, protocatequico; metilgalato y geraniina) algunos de ellos con propiedades antibacterianas, así como dépsidos.¹⁴

Para la caracterización de los compuestos fenólicos se realizó con la espectroscopia ultravioleta, lográndose separar de la fracción de acetato de etilo tres bandas (F1, F2 y F3). La fracción F1 corresponde a un compuesto fenólico (flavonoide) con una fluorescencia marrón oscuro y muestra una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 340 nm, la fracción F2 corresponde a un compuesto fenólico (ácido fenólico) con una fluorescencia azul celeste y muestra una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 255 y 277 nm, F3 corresponde a un compuesto fenólico (flavonoide) con una fluorescencia amarillo que muestra una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 270 y 360 nm. Los estándares utilizados fueron: ácido benzoico con una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 230 y 270 nm y ácido tánico con una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 220 y 272 nm.

En un estudio realizado se aisló y se identificó a partir de las partes aéreas de *Erodium cicutarium* (L) L'Her, junto con los compuestos esenciales tales como: ácido galoilshikimico con una absorbancia en UV/vis (MeOH): λ max = 215, 277 nm, metil galato 3-O- β -D-glucopiranosido con una absorbancia en UV/vis (MeOH): λ max = 220, 268 nm, dihidrogeraniina con una absorbancia en UV/vis (MeOH): λ max = 221, 280 nm, corilagin con una absorbancia en UV/vis (MeOH): λ max = 217, 270 nm, erodiol con una absorbancia en UV/vis (MeOH): λ max = 210, 261, 299 nm, geraniina con una absorbancia en UV/vis (MeOH): λ max = 220, 280 nm y quercetin

3-O-(6''-O-galoil)- β -D-galactopiranosido (hiperin - 6''-galato) con una absorbancia en UV/vis (MeOH): λ max = 259, 270 sh, 360 nm; (MeOH+MeONa): λ max = 273, 326, 411 nm; (MeOH+AlCl₃): 275, 308 sh, 420, 440; (MeOH+AlCl₃+HCl): λ max = 270, 300 sh, 385, 415 nm; (MeOH+NaOAc): λ max = 273, 370 nm; (MeOH+NaOAc+H₃BO₃): λ max = 264, 297 sh, 380 nm.¹⁵ Todos estos datos son similares a los reportados en el presente trabajo por lo tanto podemos asumir que los compuestos fenólicos aislados podrían corresponder a uno de los ácidos fenólicos o flavonoides mencionados.

En la figura 07 y anexo 14, se muestra que los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L'Her, demostraron tener actividad antioxidante al captar el radical libre DPPH. Esta capacidad antioxidante de estos compuestos se debe principalmente a sus propiedades redox, el cual les permite actuar como agente reductor donante de hidrogeno, desactivadores de hidrogeno quelantes de metales, además depende de su estructura individual y del número de hidroxilos sustituyentes.⁹ Las concentraciones de 10 μ g/ml tuvo una actividad antioxidante del 57.17 %, los de 50 μ g/ml en un 95.16 % y los de 100 μ g/ml en 96.18 %, y los estándares ácido caféico y ácido ascórbico en 97.2 % y 97,61%. Si comparamos el porcentaje de secuestro del radical libre de los estándares con los compuestos fenólicos aislados podemos decir que las concentraciones de 50 μ g/ml y 100 μ g/ml de compuestos fenólicos tiene una actividad antioxidante ligeramente inferior a los estándares. La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos depende de su estructura molecular, la cual influye en la facilidad con la que un átomo de hidrogeno de un grupo hidroxilo aromático puede ser donado a un radical libre y en la habilidad de un fenol de soportar un electrón no apareado.¹⁴ La vitamina C es un poderoso antioxidante hidrosoluble, inhibe la oxidación de los lípidos, actúa contra las enfermedades cardiacas, cáncer y otros trastornos degenerativos.¹⁶

El análisis de varianza factorial demostró que existe diferencia estadística entre la actividad secuestradora de los compuestos fenólicos, ácido caféico y ácido ascórbico. En un estudio realizado se evaluó la actividad antioxidante de algunas especies gerianaceae por el método de DPPH del extracto metanólico al 80% obteniéndose como resultados, *Geranium macrorrhizum*, *Gernium sanguineum*, *Geranium pyrenaicum*, *Geranium robertianum* ubicó como los cuatro primeros extractos de plantas más activas, mostraron una fuerte actividad en los radicales DPPH con el

IC50 determinados valores de 10,58; 11,93; 13,61; 14,93 g/ml demostrando que los extractos de las especies Gerianaceae son prometedoras fuentes de antioxidantes naturales.¹⁷

En la figura 8, los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja", muestra una CL₅₀ de 29.6744 ppm, con un límite superior al 95% de 83.5863 y un límite inferior al 95% de 10.5349, demostrando que es un extracto con una elevada bioactividad, es decir, que contiene sustancias químicas bioactivas, puesto que un extracto con un CL₅₀ <1000 ppm son considerados bioactivos.^{9,18}

CONCLUSIONES

1. Los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" tienen actividad antioxidante.
2. El extracto etanólico de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja", contiene metabolitos secundarios como son: flavonoides, taninos, azúcares reductores, fenoles, catequinas y terpenoides.
3. Se aislaron tres compuestos fenólicos: dos flavonoides y un ácido fenólico de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja".
4. Los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" tienen actividad antioxidante, donde las concentraciones de 50 µg/ml y 100 µg/ml demostró tener actividad antioxidante superior al 90% y la concentración de 10 µg/ml superior al 50%.
5. Los compuestos fenólicos aislados de *Erodium cicutarium* (L) L' Her "auja auja" tienen una buena bioactividad con un CL₅₀ = 29,6744

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Devasagayam TPA, Tilak JC, Boloor KK, Sane K, Ghaskadbi S, Lele RD. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. JAPI [revista en internet]. 2004 [acceso Mayo de 2013] Vol. 52: 794804. Disponible en <http://www.panelamonitor.org/media/docrepo/document/files/freeradicalsand-antioxidants-in-human-health.pdf>.
2. Aruoma O. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. Journal of the American Oil Chemists' Society. [revista en internet]. 1998 [acceso mayo de 2013] 75(2): 199-212. Abstract. Disponible en:

<http://link.springer.com/article/10.1007/s11746-998-0032-9#page-1>.

3. Rodrigo R. Oxidative stress and antioxidants: their role in human disease. Nova Science Publishers, Inc. New York – USA [revista en internet] 2009. [acceso mayo de 2013]. Disponible en: <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ars.2008.2146>.
4. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. Métodos en el Estudio de los Productos Naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2da Edición. Fondo Editorial; 1994.
5. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales, Universidad de la Habana Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba. 2000.
6. Aguilar Felices E. Estudio de los flavonoides aislados de las hojas de *Smilax sonchifolius* (yacón) y determinación de su actividad antioxidante e inmunológica [Tesis de Maestría]. Lima. UNMSM; 2006.
7. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Sangklanakarín J. sci. technol. [revista en internet] 2003. [acceso febrero 2013]; 26(2): 211-219. Disponible en: <http://rdo.psu.ac.th/sjstweb-old/journal/26-2/07-DPPH.pdf>.
8. CYTED. Manual de técnicas de investigación. Revista Iberoamericana de Ciencias y Tecnología. Madrid 1995.
9. Banerjee S, Bonde C. Total phenolic content and antioxidant activity of extracts of *Bridelia Retusa Spreng Bark*: Impact of dielectric constant and geographical location Journal of medicinal plants research. [revista en internet] 2011. [acceso febrero 2013]; Vol. 5(5). 817-822. Disponible en: <http://www.academicjournals.org/jmpr/pdf2011/4Mar/Banerjee0Bonde.pdf>.
10. Villar del Fresno, A. Farmacognosia General. Editorial Síntesis. España. 1999.
11. Castañeda, B., Ramos, E., Ibáñez, L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Horizonte Médico [revista en internet]. 2008 [acceso Febrero de 2013]; Vol. 8 N°1. Disponible en: <http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2008-I/Art4-Vol8-N1.pdf>.
12. Gutiérrez M, Ortiz C, Mendoza C. Medición de fenoles y actividad antioxidante en

- malezas usadas para alimento animal. Simposio de Metrología [revista en internet] 2008. [acceso febrero 2013]; Vol. 1(1). Disponible en: https://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf.
13. Cheeseman K, Slater T. Free Radicals in Medicine. British Medical Bulletin [revista en internet] 1993. [acceso febrero 2013]; Vol. 49(3), pp. 481-491. Disponible en: <http://bmb.oxfordjournals.org/content/49/3/481.abstract>.
 14. Calderón P. Determinación de las propiedades antioxidantes del jugo de naranja comercial sometido a distintas condiciones de almacenamiento. [Tesis de Pregrado]. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia; 2007.
 15. Fecka I, Kowalczyk A, Cisowski W. Phenolic acids and depsides from some species of the *Erodium* genera. Z Naturforsch C [revista en internet] 2001. [acceso junio de 2013]; 56 (11-12): 943-50. Abstract. Disponible en: <http://www.znaturforsch.com/ac/v56c/56c0943.pdf>.
 16. Criado Dabrowska C, Moya Mir M. vitaminas y antioxidantes. Servicio de Medicina Interna y Urgencias. Ed. Sanidad y Ediciones, S.L. Barcelona. actuaciones el médico; 2009.
 17. Nicolova M. evaluación de la actividad antioxidante en algunas especies Gerianaceae. Instituto de Botánica de la Academia Búlgara de Ciencias [revista en internet] 2010. [acceso junio 2013]; UDK 615.322:582.751.2; 582.751. disponible en: http://botanicaserbica.bio.bg.ac.rs/arhiva/pdf/2010_34_2_518_full.pdf.
 18. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Editorial Universitaria. Universidad San Carlos de Guatemala. 1996.