

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



Actividad antioxidante y contenido de compuestos  
fenólicos y flavonoides de las hojas de *Condalia  
weberbaueri* Perk "ambrancay". Ayacucho 2018

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL  
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR LA:

**Bach. BEIZAGA ZEVALLOS, KRYSS BETZY**

AYACUCHO – PERÚ

2018



Agradezco a Dios por permitirme realizar esta tesis, brindándome la fortaleza y perseverancia para poder concretar uno de mis sueños.

A mis padres, hermanos, esposo e hijos fuente de apoyo emocional constante.



## **AGRADECIMIENTO**

A mi *Alma Mater*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de excelentes profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, en especial al “Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos”, a todos los docentes por sus enseñanzas y orientaciones durante mi formación profesional.

Un reconocimiento especial al Mg. Q.F. Marco Rolando Arones Jara por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en la dirección de esta tesis.



## ÍNDICE

	<b>Página</b>
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”	5
2.3. Estrés oxidativo	6
2.4. Radicales Libres	6
2.5. Compuestos fenólicos	7
2.6. Antioxidantes	11
2.7. Medición de la actividad antioxidante	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	15
3.2. Definición de población y muestra	15
3.2.1. Población	15
3.2.2. Muestra	15
3.2.3. Unidad de análisis	15
3.2.4. Sistema de muestreo	15
3.3. Metodología y recolección de datos	15
3.3.1. Recolección e identificación de la muestra vegetal	15
3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico	16
3.3.3. Identificación de compuestos químicos del extracto hidroalcohólico	16
3.3.4. Determinación del contenido de fenoles totales	16
3.3.5. Cuantificación de flavonoides totales	17
3.3.6. Determinación de la actividad antioxidante	18
3.3.6.1. Método de radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)	18
3.3. Análisis estadístico	19
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	27
VI. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	35

VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
IX.	ANEXOS	43



## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”	5
<b>Tabla 2.</b> Clasificación de los modelos de ensayo <i>in vitro</i> según su modo de reacción ET.	13
<b>Tabla 3.</b> Clasificación de los modelos de ensayo <i>in vitro</i> según su modo de reacción HAT.	13
<b>Tabla 4.</b> Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”, Ayacucho 2018.	23
<b>Tabla 5.</b> Concentración inhibitoria 50 (CI <sub>50</sub> ) del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.	26



## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Estructura de los ácidos benzoicos.	9
<b>Figura 2.</b> Estructura de los ácidos cinámicos.	10
<b>Figura 3.</b> Núcleo básico de los flavonoides.	10
<b>Figura 4.</b> Estructura química de los flavonoides	11
<b>Figura 5.</b> Mecanismo de reacción del DPPH con sustancias antioxidantes (AH)	14
<b>Figura 6.</b> Contenido de fenoles totales y flavonoides en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk "ambrancay". Ayacucho 2018	24
<b>Figura 7.</b> Porcentaje de actividad antioxidante mediante el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk "ambrancay". Ayacucho 2018.	25



## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Página</b>
<b>Anexo 1.</b> Certificado de identificación de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”. Ayacucho 2017	45
<b>Anexo 2.</b> Flujograma de procedimientos a seguir para la determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.	46
<b>Anexo 3.</b> Flujograma para la identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.	47
<b>Anexo 4.</b> Resultados de la identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”, Ayacucho 2018.	48
<b>Anexo 5.</b> Metodología para la cuantificación de fenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.	49
<b>Anexo 6.</b> Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.	50
<b>Anexo 7.</b> Protocolo para la determinación del contenido de flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.	51
<b>Anexo 8.</b> Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.	52
<b>Anexo 9.</b> Protocolo para la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.	53

<b>Anexo 10.</b>	Determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.	54
<b>Anexo 11.</b>	Curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante, según el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.	55
<b>Anexo 12.</b>	Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.	56
<b>Anexo 13.</b>	Prueba de Levene de igualdad de varianzas del CI50, mediante la captación del radical DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.	577
<b>Anexo 14.</b>	Comparación múltiple de DUNCAN de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”, Ayacucho 2018.	58
<b>Anexo 15</b>	Matriz de consistencia	59

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante, contenido de fenoles totales y flavonoides de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, el cual fue desarrollado en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga durante los meses de enero - junio del 2018. Las muestras de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, fueron recolectadas al azar, durante el mes de enero en la Picota, distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. Al extracto hidroalcohólico, se realizó la marcha fitoquímica utilizando el método de análisis cualitativo de ensayo a la gota, identificando la presencia de taninos, flavonoides, saponinas, catequinas, cumarinas, alcaloides, quinonas, esteroides y azúcares reductores. La cuantificación de fenoles totales y flavonoides totales fue realizada de acuerdo al método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu y cloruro de aluminio respectivamente; el contenido de fenoles totales y flavonoides totales fue de  $260,3 \pm 1,17$  mg equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mg EAG/g ES) y  $34,2 \pm 0,76$  mg equivalentes de rutina por gramo de extracto seco (mg ERu/g ES) respectivamente. La determinación de la actividad antioxidante fue mediante el ensayo de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo). La concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay” sobre el radical DPPH fue de  $127,6 \pm 0,21$  µg/mL. La actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay” es estadísticamente diferente al estándar Trolox ( $p = 6,7 \text{ E-}23$ ).

**Palabras claves:** Antioxidante, *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, fenoles totales, flavonoides totales, DPPH.





## I. INTRODUCCIÓN

La amplia y variada flora peruana es y seguirá siendo uno de los recursos naturales más importantes ya que gracias a las investigaciones químicas y farmacológicas de estas plantas utilizadas en la medicina popular ha permitido que muchas industrias farmacéuticas elaboren productos a base de extractos de estos vegetales, los mismos que se comercializan como suplemento alimenticio, recurso natural y producto natural de uso en salud. El uso de las plantas en su forma natural está siendo revalorada en muchos países, conocido también como medicina natural.

Las plantas constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en vía de desarrollo. Aunque no existen datos precisos para evaluar la extensión del uso global de plantas medicinales, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que más del 80 % de la población mundial utiliza diariamente la medicina tradicional para satisfacer sus necesidades en la salud, y que gran parte de los tratamientos tradicionales implica el uso de extractos de plantas o sus principios activos.<sup>1</sup>

Se ha demostrado que los componentes fenólicos son los principales antioxidantes derivados de plantas. La actividad química de estos compuestos se ha comprobado en estudios de modelos *in vitro* para inhibir la oxidación. Algunos métodos utilizados para evaluar la inhibición del estrés oxidativo incluyen la inhibición de la peroxidación del ácido linoléico, la captación de radicales libres, transferencia de electrones y quelación metálica.<sup>2</sup>

Entre los compuestos fenólicos más importantes se encuentran los flavonoides, los cuales, además de su comprobada actividad antioxidante, se les han atribuido efectos terapéuticos, tales como actividades cardiotónicas, antiinflamatoria, hepatoprotectora, antineoplásica, antimicrobial, entre otros.<sup>2</sup>

Recientes investigaciones han demostrado el potencial terapéutico de compuestos antioxidantes en la prevención de enfermedades crónicas no

transmisibles entre las cuales, las más frecuentes son las enfermedades cardiovasculares y diversos tipos de cáncer, consideradas como las dos primeras causas de muerte, siendo uno de los principales factores de riesgo asociado con su desarrollo, la acción de las sustancias oxidantes.

La *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay” es una especie perteneciente a la familia de las Rhamnales reconocida por su alto contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y otros principios activos importantes responsables de la actividad antioxidante.

## **1.1. Objetivos**

### **1.1.1. Objetivo general**

- Evaluar la actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, Ayacucho 2018.

### **1.1.2. Objetivos específicos**

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”
- Cuantificar el contenido de fenoles totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”.
- Cuantificar el contenido de flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”.
- Determinar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

El estudio de la morfología y anatomía de las plantas alto andinas ayudan a comprender las adaptaciones para poder vivir en condiciones climáticas y edáficas muy difíciles. Estas plantas soportan un gran déficit de agua, que se debe en parte a la escasez de precipitación y a la sequía fisiológica por heladas nocturnas durante todo el año. La radiación tanto visible, como la ultra violeta (UV) es intensa a grandes altitudes, por ende, estas plantas sintetizan compuestos que neutralizan la radiación solar.<sup>3</sup>

La especie de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, es una planta que crece en zonas alto andinas del Perú cuyas propiedades fitoquímicas son desconocidas y son árboles muy ramosos y espinosos.<sup>4</sup>

Frontera et al.<sup>5</sup> realizaron un estudio fitoquímico de la *Condalia microphylla* Cav., e identificaron esteroides y alcoholes en el extracto etéreo, así como ácidos grasos en la fracción saponificada. En cuanto a los esteroides, se pudo observar que el componente principal en la parte aérea era el sitosterol. El alcohol principal era C22. Los ácidos grasos encontrados en mayor proporción fueron: behénico (22: 0), lignocérico (24: 0), palmítico (16: 0) y linoleico (18: 2). Los principales hidrocarburos encontrados fueron C31, C33 y C35, lo que demuestra que prevalecen los hidrocarburos con un número impar de átomos de carbono. Por otro lado, se aislaron cuatro antocianinas del extracto metanólico de la fruta. Dos de ellos identificados como malgenina-3genciobioside y malvidin-3-glucósido.

Zapata et al.<sup>6</sup> estudiaron la actividad insecticida y reguladora del crecimiento de extractos de *Blechnum chilense* (Blechnaceae) y *Condalia microphylla* Cav. (Rhamnaceae), sobre larvas de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae), el extracto de *B. chilense* obtenido con acetato de etilo y el extracto de *C. microphylla* obtenido con acetona, tienen efecto insecticida efectivo sobre larvas

de *G. mellonella*. Aplicado en dosis sub-letales afectan negativamente la ganancia de peso larvario. A su vez, el extracto obtenido de *B. chilense* presenta actividad reguladora del desarrollo larvario de *G. mellonella*, induciendo el estado de pupa en forma prematura.

Auwal et al.<sup>7</sup> Realizaron un estudio para examinar las actividades antioxidantes de extractos de diferentes partes de *Ziziphus mucronata*. Las muestras de la corteza del tallo, la raíz y la hoja se extrajeron secuencialmente con solventes de polaridad creciente y se probaron para la actividad antioxidante in vitro usando varios modelos. Cuyos resultados indicaron que todos los extractos presentan una potente actividad de eliminación de electrones y 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH). Sin embargo, los extractos etanólicos exhibieron una actividad depuradora de radicales DPPH significativamente más potente ( $p < 0.05$ ) que otros extractos y poseían valores de IC50 más bajos que el ácido ascórbico y trolox. En el trabajo de investigación titulado "Compact callus cultures and evaluation of the antioxidant activity of *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae) under in vivo and in vitro culture conditions", los polifenoles totales ( $59,73 \pm 1,37$  mg de ácido gálico / mg de extracto) y los flavonoides totales ( $12.20 \pm 0.87$  mg de quercitina / mg de extracto) que se encontraron en concentraciones altas, presentaron una capacidad de reducción y eliminación de radicales DPPH con un 57.31%, registrando una mayor actividad antioxidante en los extractos de callos.

Goncalves et al.<sup>8</sup>

La planta de *Ramnus alaternus* L. (Rhamnaceae) ha sido objeto de muchas indicaciones terapéuticas para la medicina tradicional. Muchos estudios han demostrado una actividad hepatoprotectora de *R. alaternus* L. El objetivo de este estudio fue comparar las actividades hepatoprotectoras de la decocción y los extractos de hojas de *R. Alaternus* L. macerados en ratas inicialmente expuestas al tetracloruro de carbono  $CCl_4$  (1 ml / kg). Las hojas maceradas (250 mg / kg de peso corporal) mostraron una actividad hepatoprotectora altamente significativa ( $p < 0.01$ ) expresada por una disminución significativa en marcadores bioquímicos enzimáticos tales como bilirrubina total, fosfatasa alcalina (ALP) y transaminasas (GOT y GPT).<sup>9</sup>

Sousa et al.<sup>10</sup> determinaron en su trabajo de investigación titulado "Fenoles totales y actividad antioxidante de cinco plantas medicinales". En este estudio se cuantificaron los fenoles totales y actividad antioxidante mediante el método

espectrofotométrico 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) contenido en el extracto etanólico de hojas, raíces y corteza de cinco plantas medicinales: *Terminalia brasiliensis* Camb, *Terminalia fagifolia* Mart. & Zucc., *Copernicia cerifera* (Miller) HE Moore, *cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire y *Qualea grandiflora* Mart. El total fenólico contenido en los extractos fue determinado por el método de Folin – Ciocalteu, varía desde  $250.0 \pm 8,2$  hasta  $763,63 \pm 13.03$  mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto seco. Se utilizó el agente antioxidante 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). El extracto de corteza de *T. brasiliensis* fue el más activo, con un valor de  $CI_{50}$  de  $27,59 \pm 0,82$   $\mu$ g / ml, fue comparable a la rutina ( $CI_{50} = 27,80 \pm 1,38$ ) y ácido gálico ( $CI_{50} = 24,27 \pm 0,31$ ), utilizado como los controles positivos. La relación entre el contenido fenólico total y la actividad antioxidante fue significativa y positiva para *T. brasiliensis*, *C. macrophyllum* y *C. cerifera*.

## 2.2. *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”

DIVISIÓN	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	ROSIDAE
ORDEN	RHAMNALES
FAMILIA	RHAMNACEAE
GÉNERO	<i>Condalia</i>
ESPECIE	<i>Condalia weberbaueri</i> Perk
N. V.	“ambrancay”

Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis*, UNSCH 2017. **(Anexo 01)**

### 2.2.1. Descripción botánica

Arbusto o pequeño árbol generalmente ramoso y espinoso, con entrenudos muy cortos y ramas a menudo transformadas en espinas más o menos largas. Hojas frecuentemente agrupadas a modo de fascículos en ramas muy cortas, alternas, pequeñas, con pecíolos cortos y láminas con venación pinnada, margen por lo general entero. Flores actinomorfas, períginas. Sépalos 5 (4-7), deltoides. Pétalos ausentes. Ovario libre, rodeado por un gran disco intraestaminal, generalmente bilocular, estilo simple o levemente 2-3-lobado. Drupa esférica elipsoide u odovoide, con un pireno leñoso generalmente bilocular.<sup>4, 11</sup>

Fruto drupa con endocarpo lignificado, con 1-2 semillas endospermadas.<sup>12</sup>

### **2.2.2. Hábitat y distribución geográfica**

La *Condalia weberbaueri* Perk., es una planta de zonas altas y habitan en la vertiente pacífica del Perú.<sup>3</sup> Estas especies endémicas provienen de las regiones bosques secos y desierto cálido tropical, desde 2800 m de altitud.<sup>13</sup>

Se la encuentra en las ecoregiones del Chaco húmedo y seco, en los montes de llanuras, en las mesetas, en sierras, bolsones y en la selva de las Yungas.<sup>11</sup>

### **2.2.3. Usos y propiedades medicinales**

Se desconocen mucho los usos y propiedades de este género de planta, sin embargo, de la gran mayoría de las plantas los frutos son comestibles. La *Condalia velutina* es usado como analgésico, con la corteza se hace una infusión cuyo líquido resultante es utilizado para enjuagar la boca y de esta manera quitar el dolor de muelas. Los frutos son comestibles y tienen un sabor agridulce.<sup>14</sup>

### **2.3. Estrés oxidativo**

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen un desbalance entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado; por lo tanto, se reconoce como mecanismo general de daño celular, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de un número creciente de entidades y síndromes de interés médico-social, involucrado en la génesis y en las consecuencias de dichos eventos.<sup>15</sup>

### **2.4. Radicales Libres**

Los radicales libres (RL) son átomos o grupos de átomos que tienen uno o más electrones desapareados lo cual los hace altamente inestables y reactivos.

Estos radicales recorren nuestro organismo deseando robar un electrón de las moléculas estables, con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica por medio de reacciones de óxido-reducción.<sup>16</sup>

Una vez que el RL ha conseguido robar el electrón que necesita para aparear su electrón libre, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un nuevo RL, por quedar con un electrón desapareado; iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células; estas reacciones en cadena se combaten con la acción de los antioxidantes, los cuales neutralizan los átomos de oxígeno. La vida biológica media del RL es de

microsegundos; pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un estrés oxidativo que puede conducir a diversas enfermedades, tales como envejecimiento, problemas del sistema cardiovascular (arterosclerosis), problemas en el sistema nervioso, daño genético (mutaciones y cánceres).<sup>16</sup>

#### **2.4.1. Actividad química de los radicales libres**

Se sabe que los electrones de los átomos ocupan regiones en el espacio denominado orbitales, cada uno de los cuales puede contener un máximo de dos. Así, tenemos por captación de un electrón, el oxígeno molecular se convierte en un radical con carga negativa el anión superóxido ( $O_2^-$ ). Un segundo producto, el peróxido ( $H_2O_2$ ) aunque no es realmente un radical, pero la captación de un electrón y un protón da lugar a la formación de molécula de agua y a un radical hidroxilo ( $OH^\cdot$ ).<sup>23</sup>

El radical oxidrilo ( $OH^\cdot$ ), se considera una molécula toxica para el organismo y su generación es aparentemente accidental y no forma parte del metabolismo normal. Puede ser generado por reacción inicial en el  $O_2$  y el NO o derivado de reacciones promovidas por iones metálicos de transición como el  $Fe^{+2}$  y el  $Cu^+$ .<sup>23</sup>

#### **2.4.2. Radicales libres en el organismo humano**

El organismo humano fabrica también radicales libres ( $OH^\cdot$ ,  $O_2^-$ , y el  $NO^\cdot$ ). En efecto el anión superóxido  $O_2^-$  se genera en las células fagocíticas para cumplir una función bactericida. La activación fagocitaria excesiva provoca lesiones en los tejidos, a las que contribuyen los radicales de oxígeno.<sup>23</sup>

La mayor parte de oxígeno utilizado por el organismo humano es reducida a agua por la acción del complejo citocromo – oxidasa de la cadena respiratoria mitocondrial. Sin embargo, el efecto lesivo del oxígeno, se forma al sufrir cambios por reducciones univalentes o por captación de energía.<sup>14</sup> Por otro lado, el oxígeno molecular puede absorber energía y convertirse en una molécula sumamente reactiva, el siguiente de oxígeno ( $O_2$ ).<sup>23</sup>

### **2.5. Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un grupo amplio de sustancias químicas, con estructuras, propiedades químicas y actividad biológica diferente, englobando más de 8000 compuestos distintos.<sup>2</sup>

Los compuestos fenólicos es el grupo más numeroso y ampliamente distribuido en la naturaleza. Además de su comprobada actividad antioxidante, se les han atribuido una gran diversidad de efectos terapéuticos, tales como actividades

cardiotónicas, antiinflamatoria, hepatoprotectora, antineoplástica, antimicrobial, entre otros. Químicamente, estos compuestos son sustancias que poseen un anillo aromático, con uno o más grupos hidroxilo.<sup>2, 17</sup>

Los compuestos fenólicos o polifenoles son sustancias orgánicas que constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de las plantas, donde desempeñan diversas funciones fisiológicas. Poseen un anillo benceno hidroxilado, los cuales agrupan un amplio intervalo de sustancias que difieren en el número de átomos de carbono, que las constituyen en conjunto con el esqueleto fenólico básico, además del número y posición de los sustituyentes hidroxilo.<sup>17, 18</sup>

La actividad antioxidante se debe a la presencia del ortodiol o catecol en la estructura de los diversos compuestos, esto les da la capacidad de quelar metales, interceptar radicales libres y modular la actividad enzimática.<sup>18</sup>

Algunos de los principales efectos biológicos que les confieren actividad antioxidante son:

- Suprimen la oxidación de lipoproteínas de baja densidad.
- Presentan antagonismo hacia receptores carcinogénicos.
- Modulan la secreción de las citocinas, así como la expresión de las cinasas proteicas en la proliferación de tumores.
- Inducen la expresión de enzimas anticarcinogénicas o inhiben la inducción de enzimas promotoras de cáncer.
- Tienen propiedades antiinflamatorias, antibacterianas y antifúngicas.

La mayoría de los polifenoles presentes en alimentos están en sus formas conjugadas, los fenoles libres se encuentran únicamente en tejidos muertos.

Los flavonoides que incluyen a las flavanonas, flavonoles y taninos condensados, funcionan como quelantes de metales, atrapan radicales libres, inhiben la xantina - oxidasa asociada a la formación de especies reactivas del oxígeno y la proliferación de células cancerígenas en pulmones, estómago y colon, además, previenen enfermedades coronarias. Los flavonoles se distribuyen en sus formas sin conjugar lo que les da una significancia metabólica.<sup>18</sup>

### **2.5.1. 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,

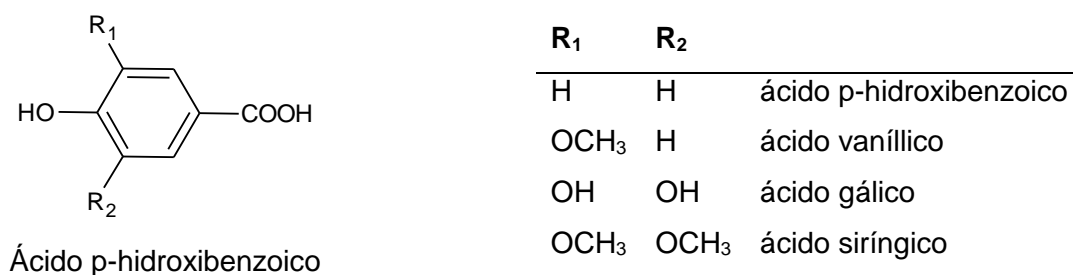


ácido benzoico y cinámico, respectivamente. En contraste con otros compuestos fenólicos, HBA y HCA presentan un carácter ácido debido a la presencia de un grupo carboxílico en la molécula. Ellos están ampliamente representados en las plantas, aunque su distribución puede variar fuertemente con especies, variedad, y etapa fisiológica. Además, sus propiedades antioxidantes son esenciales en los mecanismos de defensa antioxidantes de los sistemas biológicos.<sup>24</sup>

### 2.5.1.1. Clasificación de los ácidos fenólicos

#### a. Derivados del ácido hidroxibenzoico C<sub>6</sub> – C<sub>1</sub>

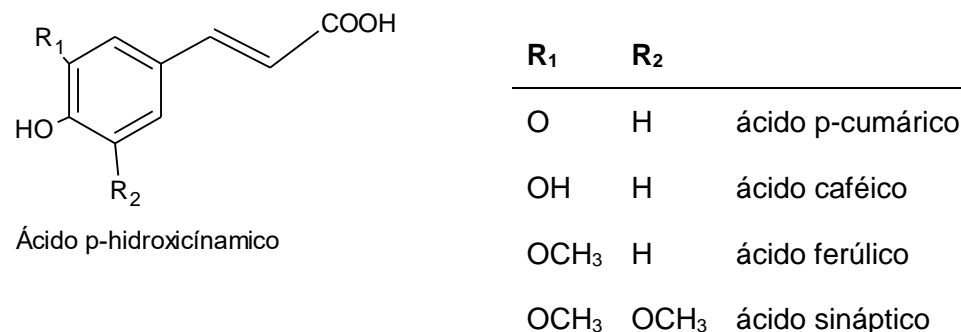
Se encuentran distribuidos en el reino vegetal, poseen 7 átomos de carbono, el grupo carboxílico está enlazado directamente al anillo aromático C<sub>6</sub> - C<sub>1</sub>, tienen un esqueleto formado por fenilpropanoides. Se encuentran libres o combinados en forma de heterósidos o ésteres. Están presentes en forma de aldehídos, derivados metoxilados y algunos alcoholes.<sup>35,36</sup>



**Figura 1.** Estructura de los ácidos benzoicos<sup>27</sup>

#### b. Derivados del ácido hidroxicinámico C<sub>6</sub> – C<sub>3</sub>

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 C<sub>6</sub> - C<sub>3</sub>. Los principales ácidos son (caféico, ferúlico, *p*-cumárico y sináptico).<sup>35,36</sup>



**Figura 2.** Estructura de los ácidos cinámicos.<sup>27</sup>

## 2.5.2. 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 ( $C_6 - C_3 - C_6$ ), 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, antimicrobianas, antialérgicas, antitumorales.<sup>25,26</sup>

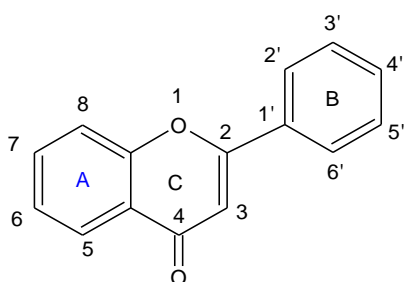


Figura 3: Núcleo básico de los flavonoides.<sup>27</sup>

### 2.5.2.1. Clasificación de flavonoides

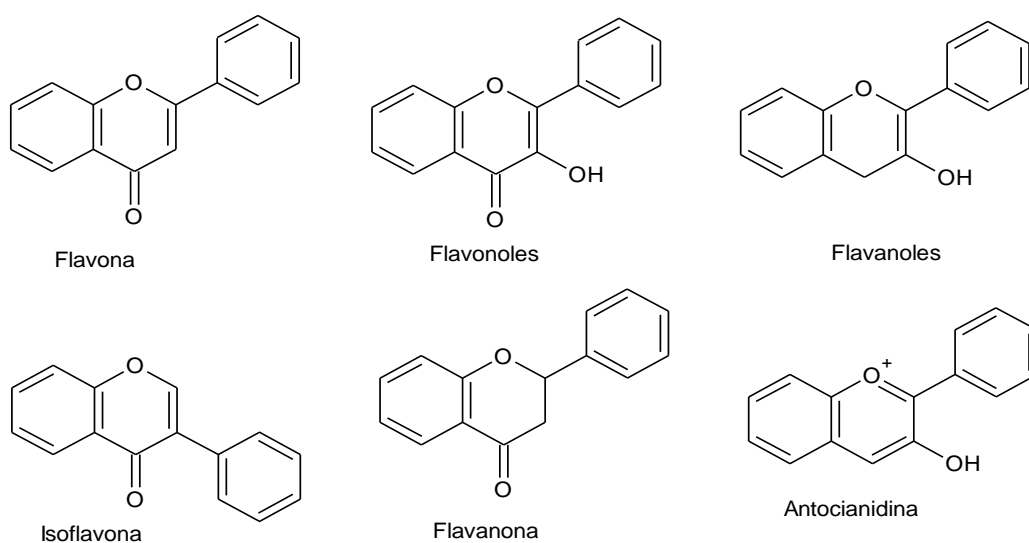


Figura 4: Estructura química de los flavonoides.<sup>25</sup>

Las variaciones estructurales en los anillos permiten subdividir a los flavonoides en seis subclases: flavonas, flavonoles, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas, flavanoles.<sup>27</sup>

## **2.6. Antioxidantes**

Es una sustancia que encontrándose a bajas concentraciones respecto a la de un sustrato oxidable, actúa antes o durante una reacción en cadena de los radicales libres, ya sea en la etapa de iniciación, propagación, terminación, descomposición o en la subsecuente oxidación de los productos. Los antioxidantes que se encuentran naturalmente en el organismo y en ciertos alimentos; previenen el daño derivado del estrés oxidativo generado por diferentes sustancias que ingresan al cuerpo liberando radicales libres que afectan el comportamiento celular. Son sustancias que tienen la capacidad de inhibir la oxidación causada por los radicales libres, actuando algunos a nivel intracelular y otros en la membrana de las células, siempre en conjunto para proteger a los diferentes órganos y sistemas.

En los últimos años el interés por los antioxidantes naturales se ha incrementado notoriamente, debido principalmente a tres razones: 1) la baja seguridad que ofrece el consumo de antioxidantes sintéticos, 2) la eficacia antioxidante de una variedad de agentes fitoquímicos, y 3) la idea generalizada de que el consumo de ciertos agentes fitoquímicos pueden afectar de manera positiva la patología de las enfermedades crónicas y el proceso de envejecimiento; además, la creencia de que los compuestos naturales son innatamente más seguros que los compuestos sintéticos y por consiguiente son comercialmente más aceptados.<sup>1</sup>

Dentro de este tipo de compuestos antioxidantes se encuentran los compuestos fenólicos que son compuestos asociados al color, a las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), características nutritivas de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol.<sup>19</sup>

En particular, los antioxidantes naturales (hidrosolubles y liposolubles) pueden funcionar como compuestos reductores, interrumpen la formación de radicales libres, inhiben la formación de oxígenos libres e inactivan los metales prooxidativos. Los radicales libres se forman en el organismo mediante la respiración aeróbica y existen en diferentes formas como: anión superóxido, hidroxilos, peróxidos, y alcóxilos.<sup>18</sup>

### **2.6.1. Antioxidantes primarios**

Los antioxidantes primarios son aquellos que previenen la formación de nuevas “Especies Reactivas de Oxígeno” (ERO) y las transforman en otras menos perjudiciales antes de que reaccionen. En este grupo se destacan las enzimas superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx), ferritina, ceruloplasmina de tipo ferroxidasa y catalasa.<sup>1</sup>

### **2.6.2. Antioxidantes secundarios**

Capturan los radicales y evitan las reacciones en cadena. Algunos ejemplos de ellos son la vitamina E y C,  $\beta$ -caroteno y sustancias endógenas con capacidad antioxidante, entre las que se encuentran el glutatión, bilirrubina, ubiquinona, albúmina y ácido úrico.<sup>1</sup>

### **2.6.3. Antioxidantes terciarios**

Los antioxidantes terciarios son los encargados de la reparación de las biomoléculas dañadas. Se incluyen las enzimas endonucleasa apurínica/pirimidínica y polimerasa  $\beta$ , reparadoras del ADN y la metionina sulfóxido reductasa.<sup>1</sup>

## **2.7. Medición de la actividad antioxidante**

Existen numerosos métodos para medir la capacidad antioxidante de los compuestos, los que se clasifican en dos categorías:

La primera, mide la inhibición de la oxidación en un sistema modelo por monitoreo a los cambios asociados usando medios físicos, químicos o instrumentales.<sup>20</sup>

La segunda, involucra a los ensayos captadores de radicales, los cuales incluyen métodos basados en mecanismos de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) o transferencia de electrones (ET). Los ensayos ORAC (capacidad de absorber radical oxígeno) y TRAP (parámetro antioxidante que atrapan los radicales totales), son los mejores métodos utilizados para medir el HAT. Los ensayos TEAC (capacidad antioxidante equivalente a Trolox), FRAP (poder antioxidante reductor férrico) y el DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil) representan a los métodos basados en ET.<sup>20</sup>

Ensayos basados en la reacción por transferencia de electrones (ET).

ENSAYO	CATEGORÍA
Acido 2,2´azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS <sup>•+</sup> ) 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) Poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP) N, N- dimetil-p- fenilendiamina (DMPB) Capacidad de reducción antioxidante del cobre (CUPRAC)	Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET)

**Tabla 2.** Clasificación de los modelos de ensayo *in vitro* según su modo de reacción ET.<sup>21</sup>

Ensayos basados en la reacción por transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)

ENSAYO	CATEGORÍA
Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC) Parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP) Inhibición de la oxidación del ácido linoleico Inhibición de la oxidación de los lípidos de baja densidad (LDL)	Ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)

**Tabla 3.** Clasificación de los modelos de ensayo *in vitro* según su modo de reacción HAT.<sup>21</sup>

### 2.7.1. Ensayo del DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

El método DPPH es el método de neutralización del radical libre 2,2-difenildipicrilhidracil. El radical libre y estable DPPH, es una sustancia que mide la capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidante. Este método es empleado para sustancias liposolubles o hidrosolubles <sup>19,22</sup>

La solución del reactivo de DPPH es de color violeta y con una absorción de 515 nm. La reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (antioxidante) por el radical libre DPPH, desarrollando un cambio del color violeta a amarillo, al disminuir la concentración del radical libre. El grado de este decoloramiento indica la habilidad del antioxidante de secuestrar al radical libre; el que se lee en el espectrofotómetro después de veinte a treinta minutos de reacción.<sup>19, 20</sup>



### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Ubicación del trabajo de investigación**

El presente trabajo de investigación y procesamiento de las muestras se llevó a cabo en los laboratorios del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

#### **3.2. Definición de población y muestra**

##### **3.2.1. Población**

Está constituida por las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, que crecen en la Picota, distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

##### **3.2.2. Muestra**

Está constituida por 1 kg de hojas frescas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, que fueron recolectadas en la Picota en horas de la mañana en el mes de enero, realizando muestreo por conveniencia

##### **3.2.3. Unidad de análisis**

5g de extracto seco de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”.

##### **3.2.4. Sistema de muestreo**

Libre por conveniencia

#### **3.3 Metodología y recolección de datos**

##### **3.3.1 Recolección e identificación de la muestra vegetal**

Las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay” fueron recolectadas en horas de la mañana, seleccionadas, lavadas y secadas a temperatura ambiente, en un lugar con buena ventilación, cambiando el papel de soporte y removiendo el vegetal para evitar su descomposición, por un periodo de tres semanas según las directrices de la OMS.<sup>28</sup>

La clasificación de la planta fue realizada por la Blga. Laura Aucasime Medina, de acuerdo al sistema de clasificación de Arthur Cronquist et al., 1981 (Anexo 1).

### **3.3.2 Obtención del extracto hidroalcohólico**

Luego del secado de las hojas se procedió a reducir el tamaño de la muestra utilizando molino de cuchilla, hasta obtener un pulverizado uniforme, luego se pesó 20g aproximadamente de muestra seca pulverizada, el cuál fue llevado a un frasco ámbar para su maceración, cubriéndolo con alcohol de 50° hasta una altura de 1-2cm por encima de la muestra, por un periodo de 24 h. Después se colocó en un percolador durante 24 horas adicionales, posteriormente se dejó salir el percolado a razón de 20 gotas por minuto (agregando continuamente el solvente) y posteriormente fue filtrada para evitar polvillos.

Luego se procedió a secar el extracto empleando una estufa a una temperatura de 40°C. El producto obtenido se envasó en un recipiente ámbar. 40°

### **3.3.3 Identificación de compuestos químicos del extracto hidroalcohólico**

La identificación de los diferentes compuestos químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, fueron realizadas siguiendo los procedimientos de Pérez et al.,<sup>29</sup> y Miranda y Cuéllar.<sup>30</sup>

### **3.3.4 Determinación del contenido de fenoles totales**

La determinación de contenido de fenoles totales se realizará mediante el método de espectrofotometría de Folin-Ciocalteu, para lo cual se usará ácido gálico como el compuesto fenólico de referencia.<sup>31</sup>

Este método se fundamenta en su carácter reductor y seguida neutralización. Consiste en la mezcla de la muestra a analizar y el reactivo de Folin-Ciocalteu, el cual tiene la capacidad de reaccionar con los compuestos polifenólicos, dando como resultado un cambio de coloración de amarillo a azul, y su intensidad depende del contenido de fenoles presentes en la muestra. Seguidamente se mide esta coloración en el espectrofotómetro.<sup>32</sup>

#### **a. Procedimiento**

Se tomó 100 µL de las muestras convenientemente diluidas, 500 µL del reactivo Folin – Ciocalteu 1:10, 400 µL de una solución de carbonato de sodio al 7,5%. Se mezclaron en un tubo de ensayo y se dejó reaccionar en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 765 nm utilizando un espectrofotómetro. El contenido de fenoles totales se expresó en miligramos de equivalentes de ácido



gálico (GAE) por gramo de extracto seco, a partir de una curva de calibración del estándar ácido gálico de 10 a 60 µg/mL.

#### **b. Cálculos**

Para determinar el valor del contenido de fenoles totales se procedió a realizar una regresión lineal con las absorbancias obtenidas, de tal manera que se obtiene la siguiente ecuación:  $y=bx+a$ , donde “b” es la pendiente y “a” la intersección, para calcular el contenido de fenoles totales se reemplazó en el valor correspondiente en el eje “Y” y en el eje “X”, posteriormente fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mg EAG/g ES).

#### **3.3.5 Cuantificación de flavonoides totales**

El contenido de flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay” fue determinado por el método de Gonzales.<sup>34</sup> Empleando el reactivo de cloruro de aluminio ( $AlCl_3$ ). Utilizando la rutina como el compuesto flavonoide de referencia.

##### **a. Procedimiento**

Se preparó una solución madre de rutina, para ello se pesó 1mg de rutina, y llevó a un matraz de 25mL, se disolvió con 2,5ml de metanol y se aforó a volumen con etanol de 50°.

A partir de la solución del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, se tomaron alícuota de 2mL y se transfirió a un volumétrico de 5mL, se adicionó a continuación 0,5mL del reactivo de cloruro de aluminio ( $AlCl_3$ ) al 2%. Se completó con alcohol de 50° hasta volumen. Después de treinta minutos de incubación a temperatura ambiente, la absorbancia fue medida a 415 nm. El contenido de flavonoides totales se reportó como equivalentes de rutina (mg de rutina/g extracto seco) a partir de la curva de calibración de este compuesto.<sup>33</sup>

La curva de calibración se trabajó en un intervalo de concentración de 8-32 ug/mL. Las evaluaciones de los extractos del extracto hidroalcoholico de las hojas de atomizado *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay” se realizó por triplicado.

##### **b. Cálculos**

Para determinar el valor del contenido de flavonoides totales se procedió a realizar una regresión lineal con las absorbancias obtenidas, de tal manera que se obtiene la siguiente ecuación:  $y=bx+a$ , donde “b” es la pendiente y “a” la

intersección, para calcular el contenido de flavonoides totales se debe reemplazar en el valor correspondiente en el eje “Y” y en el eje “X”, posteriormente fueron expresados como mg equivalentes de rutina por gramo de extracto seco (mg ERu/g ES).

### 3.3.6 Determinación de la actividad antioxidante

#### 3.3.6.1 Método de radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

Se realizó la evaluación cuantitativa de la actividad antioxidante siguiendo la metodología descrito por Sousa et al.<sup>10</sup> El seguimiento del consumo de radical DPPH por las muestras, mediante la disminución de la absorbancia de las soluciones a diferentes concentraciones. Estas mediciones se realizaron en UV-Vis a una longitud de onda de 515 nm, se usó el trolox como control positivo. Los resultados fueron expresados como CI50, % de actividad antioxidante.

##### a. Procedimiento

Se procedió a preparar 50 mL de la solución madre DPPH en etanol 96° a una concentración de 40 mg/mL, se deberá mantener en el refrigerador y protegido de la luz, se realizó diluciones de 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 1 µg/mL. La curva de calibración se construyó a partir de los valores de absorbancia obtenidos a 515 nm de todas las soluciones (1 a 40 µg/mL), medidas en una cubeta de vidrio con el camino óptico de 1cm y teniendo como “blanco” el etanol.<sup>10</sup>

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay” y el control positivo (trolox) en etanol 96°, fueron diluidos a concentraciones de 250, 200, 150, 100, 50 y 25 mg/mL. Las medidas de absorbancia de las mezclas de reacción (0,3 mL de solución de muestra y 2,7 mL de la solución madre de DPPH a la concentración de 40 µg/mL) se realizó a 515 nm a 30 minutos. Se utilizó una mezcla de etanol (2,7 mL) y 0,3 del extracto como blanco.<sup>10</sup>

##### b. Cálculos

###### • Cálculo de la actividad antioxidante

Los valores de absorbancia a todas las concentraciones ensayadas se convertirán en porcentaje de actividad antioxidante (%AA), que será determinada por la ecuación: <sup>4</sup>

$$\%AA = \frac{\{[Abs_{control} - (Abs_{muestra} - Abs_{blanco})] \times 100\}}{Abs_{control}} \dots\dots\dots \text{Ecuación (1)}$$

**Donde:**

Abs<sub>control</sub>: absorbancia inicial de la solución metanólica de DPPH,

Abs<sub>muestra</sub>: absorbancia de la reacción del DPPH con la muestra.

• **Cálculo de la concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>)**

El cálculo del CI<sub>50</sub> de la actividad antioxidante, se realizó a partir de la ecuación exponencial del porcentaje de DPPH remanente versus concentración Trolox y extractos hidroalcohólicos, utilizando el software OriginPro.

El cálculo del DPPH remanente fue mediante la siguiente ecuación.

$$\%DPPH_{REM} = \left[ \frac{DPPH_{T=t}}{DPPH_{T=0}} \right] \times 100 \dots\dots\dots \text{Ecuación (2)}$$

**Donde:**

DPPH<sub>T= t</sub> Concentración de DPPH en el medio después de la reacción con el extracto.

DPPH<sub>T= 0</sub> Concentración inicial de DPPH

**3.3. Análisis estadístico**

Los datos obtenidos de la evaluación de los estudios fueron procesados por Microsoft Excel y en el Software OriginPro.

Los resultados se expresan como promedio, la diferencia significativa existente entre los tratamientos fue evaluada a través del análisis de varianza (ANVA one-way), seguidos de la prueba de t-student, con un nivel de significación estadística de 0,05.

Los promedios de la actividad antioxidante son reportados en gráficos y los valores de CI50 son reportados en tablas.

Para identificar diferencias estadísticamente significativas de las concentraciones evaluados se realizó el análisis de varianza, comparaciones múltiples de Duncan y t de Student de muestras independientes con un nivel de confianza de 95%.



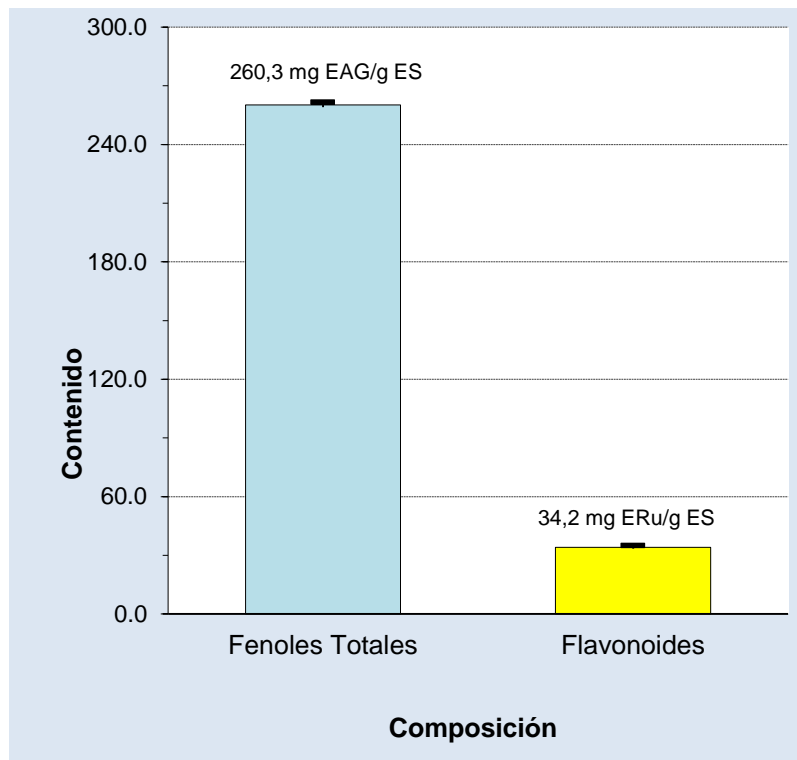
#### **IV. RESULTADOS**



**Tabla 4.** Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, Ayacucho 2018.

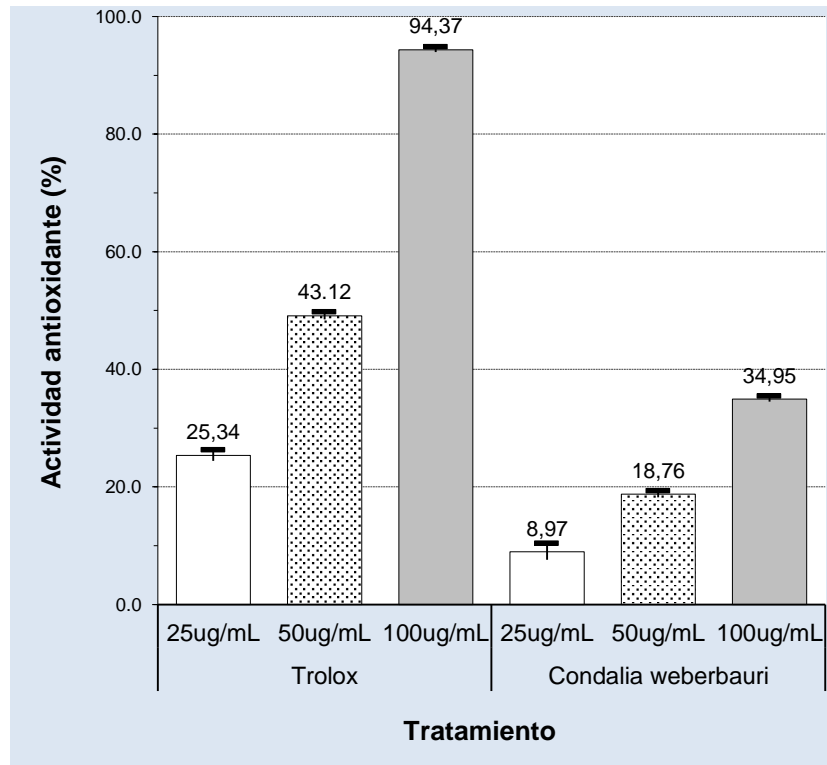
<b>Metabolitos secundarios</b>	<b>Ensayos</b>	<b>Resultados</b>	<b>Observaciones</b>
Flavonoides	Shinoda	+++	Coloración roja en la fase amílca
Fenoles y/o Taninos	Cloruro férrico	+++	Coloración verde intensa
Saponinas	Espuma	+++	Espuma
Triterpenos y/o esteroides	Liebermann - Burchard	++	Coloración roja
Quinonas	Borntrager	+++	Coloración roja en la fase acuosa (superior)
Alcaloides	Dregendorff	+++	Precipitado marrón
	Wagner	++	Turbidez
	Mayer	+++	Turbidez
Catequinas	Catequinas	++	Coloración verde
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	++	Precipitado naranja
Azúcares reductores	Fehling	+++	Precipitado rojo

**LEYENDA:** Escasa/leve (+); Regular (++); Abundante/intensa (+++)



**Figura 6.** Contenido de fenoles totales y flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.





**Figura 7.** Porcentaje de actividad antioxidante mediante el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.

**Tabla 5.** Concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.

Muestra	DPPH CI <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Condalia weberbaueri</i> Perk	127,6 ± 0,21 <sup>b</sup>
Trolox	38,8 ± 0,77 <sup>a</sup>

$$p = 2,00247 \times 10^{-10}$$

## V. DISCUSIÓN

La organización mundial de la salud mediante un informe, estima que más de la mitad de habitantes de la tierra confían en las medicinas tradicionales para resolver sus principales necesidades de salud como resultado de circunstancias históricas y creencias culturales.<sup>40</sup>

El uso de las plantas medicinales data desde la antigüedad ya que consta en diversos testimonios históricos pertenecientes a diversas civilizaciones y culturas. Estos recursos curativos vegetales están agrupados por categorías terapéuticos, de acuerdo a sus efectos farmacológicos.<sup>41</sup>

Rivas y col.<sup>37</sup>, señalan que los radicales libres se definen como cualquier especie química capaz de existir de forma independiente y que presenta uno o más electrones desapareados en su estructura, por lo tanto, son altamente reactivos; también son conocidos como especies reactivas del oxígeno y especies reactivas del nitrógeno. Estos participan en los mecanismos fisiopatológicos de muchas enfermedades, tales como: cáncer, diabetes, patologías cardiovasculares, procesos reumáticos, patologías gastroentéricas, afecciones broncopulmonares y procesos neurodegenerativas. También están implicados en procesos fisiológicos como el envejecimiento y otros.

La tabla 4, muestra los resultados del tamizaje fitoquímico realizado al extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk "ambrancay", donde se pudo comprobar la presencia de catequinas, alcaloides, taninos, flavonoides, saponinas, quinonas, esteroides, cumarinas y azúcares reductores. Resaltando los ensayos de cloruro férrico y shinoda, mediante los cuales se observaron la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos y flavonoides respectivamente, observándose una coloración verde intensa para taninos del tipo pirocatecólicos y una coloración roja intensa para flavonoides, ya que diversas investigaciones

mencionan que la actividad antioxidante se debe a estos metabolitos secundarios.

Pérez et al.<sup>29</sup>, mencionan que una coloración azul indica la presencia de taninos hidrolizables y una coloración verde, de taninos condensados.

Miranda et al.<sup>30</sup>, si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos, pero si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general; verde intenso, taninos del tipo pirocatecólicos; azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

En el caso del *Condalia weberbaueri* Perk "ambrancay", se pudo observar una coloración verde intenso para taninos condensados del tipo pirocatecólicos.

Una gran cantidad de estudios han establecido que los compuestos fenólicos de las plantas, incluyendo los flavonoides, son antioxidantes potentes con efectos antimutagénicos y anticarcinogénicos.

Toapanta S.<sup>38</sup>, señala que los compuestos fenólicos también conocidos como polifenólicos (fenoles, taninos y flavonoides), forman un conjunto muy amplio de sustancias. Estos compuestos protegen a las plantas contra los daños oxidativos y llevan a cabo la misma función en el organismo humano. Los flavonoides, también conocidos como bioflavonoides, son un grupo de sustancias polifenólicas las cuales están presentes en la mayoría de las plantas. Son principalmente reconocidos como los pigmentos responsables del color de las hojas en las plantas. La mayoría de los tejidos vegetales pueden sintetizar flavonoides, los cuales se presentan en forma de glucósidos solubles en agua y se localizan en las hojas y frutas empleadas en la alimentación humana.

En la figura 6, se observan los resultados de la cuantificación de fenoles totales y flavonoides totales, se usaron los métodos espectrofotométricos de Folin-Ciocalteu y cloruro de aluminio (AlCl<sub>3</sub>) respectivamente. Para la cuantificación de fenoles totales se elaboró la curva de calibración del ácido gálico, con un coeficiente de correlación de 0,9998 (anexo 6) obteniendo 260,3 ± 1,17mg GAE/g de extracto seco, así mismo para la cuantificación de flavonoides totales se elaboró la curva de calibración de rutina, con un coeficiente de correlación de 1 (anexo 8) obteniendo 34,2 ± 0,76mg RuE/g de extracto seco. Se puede observar que el contenido de flavonoides es menor en comparación con el

contenido de fenoles totales, esto se debe a que los fenoles engloban los flavonoides.

Cuando se realizó el método de Tricloruro de Aluminio en las muestras, estas presentaron un color amarillo, según Amaya y col.<sup>39</sup>, esto se debe a que el catión de aluminio forma complejos estables con el flavonoide en etanol evitando la interferencia de otras sustancias fenólicas.

Durante la cuantificación de fenoles totales se observó una coloración azul según Carpio RE.<sup>31</sup> es debido a que el reactivo de Folin-Ciocalteu, reacciona con los compuestos polifenólicos en un medio alcalino, dando como resultado un cambio de coloración de amarillo a azul, y su intensidad depende del contenido de fenoles presentes en la muestra.

todos los fenoles poseen una estructura común: un anillo fenol, un anillo aromático que lleva al menos un sustituyente hidroxilo. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol.<sup>46</sup>

Los flavonoides son polifenoles que poseen al menos 2 subunidades fenólicas, los compuestos que tienen 3 o más subunidades fenólicas se denominan taninos.<sup>46</sup>

La actividad antioxidante de los distintos grupos de compuestos depende de la estructura individual y del número de oxidrilos sustituyentes, así como del peso molecular. En los flavonoides, esta característica se asocia con la presencia en la molécula de grupos orto dihidroxi en el anillo B, un doble enlace entre C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub> en conjunto con la posición 4-oxo en el anillo C, y grupos 3-5 hidroxilo, y la función 4-oxo en los anillos A y C.<sup>46</sup>

Existe correlación entre el contenido de fenoles totales y la actividad de captura de radicales libres. La polaridad de los compuestos fenólicos es determinante en cuanto a la capacidad de capturar radicales libres. Los compuestos fenólicos que poseen mayor cantidad de sustituyentes hidroxilados (polihidroxilados) tienen una polaridad mayor que los otros fenoles. Los compuestos fenólicos capturan las especies reactivas del oxígeno, tales como radical anión superóxido y radicales lípidos peroxi.<sup>46</sup>

Aparcana y col.<sup>42</sup>, realizaron la cuantificación de fenoles totales en el extracto etanólico de los frutos de *physalis peruviana* “aguaymanto” obteniendo  $149,3 \pm 1,62$  mg/Eq de ácido gálico /100g de fruto.

Juli y col.<sup>43</sup>, realizaron la cuantificación de polifenoles totales en dos clones de papa nativa del genero *Solanum* de pulpa azul y roja, los polifenoles totales encontrados fueron de 1,836 y 1,082 mg ácido gálico/ g MF para el clon 304239 y clon 303851 respectivamente.

En esta investigación se determinó la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay” a través del método colorimétrico *in-vitro* con la especie radicalaria sintética DPPH, puesto que éste es el más usado en los laboratorios del mundo debido a que indica de manera general, la capacidad antioxidante de las sustancias para donar hidrógenos o captar electrones.

Para determinar la actividad antioxidante mediante el método DPPH, se trabajó con la curva de calibración del radical (anexo 10), se elaboró de acuerdo a la metodología descrita por Sousa y col.<sup>10</sup>, a las concentraciones de 1 µg/mL, 5µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, 30 µg/mL Y 35 µg/mL, preparado de acuerdo al anexo 9.

Para contrastar el porcentaje de actividad antioxidante mediante el método DPPH, se utilizó como estándar el trolox. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay” y el estándar fueron preparadas a las concentraciones de 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 200 µg/mL y 250 µg/mL (anexo 9)

Los resultados obtenidos se muestran en la figura 7, las concentraciones de 100 µg/mL, presentaron el mayor porcentaje de actividad antioxidante, según el método DPPH  $94,37 \pm 0,43$  para el trolox y  $34,95 \pm 0,43\%$  para *Condalia weberbaueri* Perk. “ambrancay” respectivamente.

La solución de alcohol DPPH es de color morado oscuro, el cual desaparece en presencia de antioxidantes, lo que produce un descenso de la absorbancia a 515nm. El DPPH es hidrófoba por lo que sus reacciones deben ejecutarse en solventes orgánicos, por ejemplo, metanol.<sup>44</sup>

En la tabla 5, se muestran los resultados de la concentración inhibitoria IC<sub>50</sub>, según el método DPPH para *Condalia weberbaueri* Perk. “ambrancay”. Donde a

menor concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>) mayor capacidad antioxidante, los resultados obtenidos fueron de 127,6 ug/mL. Además, es estadísticamente significativo ( $p = 2,00247E-10$ ), tal como se observa en el anexo 13.

Aparcana y col.<sup>42</sup>, determinaron la capacidad antioxidante del extracto etanólico de los frutos de *physalis peruviana* “aguaymanto”, mediante los métodos DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo) y ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico), obteniendo como concentración inhibitoria IC<sub>50</sub> 1,86 mg/mL por el método DPPH y como concentración inhibitoria IC<sub>50</sub> 1,29 mg/mL por el método ABTS.

Juli y col.<sup>43</sup>, determinaron la capacidad antioxidante en dos clones de papa nativa del género *Solanum* de pulpa azul y roja, mediante el método DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo), obteniendo como concentración inhibitoria IC<sub>50</sub> 27,52 µg/mL para el clon 304239 y una concentración inhibitoria IC<sub>50</sub> 76,15 µg/mL para el clon 302851.

Los antioxidantes naturales han alcanzado una gran importancia por la relación directa que manifiestan con la disminución del riesgo a producir enfermedades coronarias y cáncer, entre otras. Numerosos antioxidantes, presentes en las frutas y verduras, entre los cuales se encuentran la vitamina E (α-tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico), β-caroteno (pro-vitamina A), compuestos fenólicos y flavonoides, se han relacionado a efectos positivos en la salud debido a su efecto antioxidante.<sup>45</sup>

Este estudio se orientó a la revaloración de la *Condalia weberbaueri* Perk. “ambrancay”. como un producto andino de alta calidad que ofrece un enorme potencial, no solamente como fuente de antioxidantes o como recurso para la industria alimentaria o farmacéutica, sino que su cultivo se intensifique y se convierta en una actividad económica que mejore la calidad de vida de las poblaciones productoras.

Se logró determinar que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk. “ambrancay”. presenta actividad antioxidante.





## VI. CONCLUSIONES

1. Los metabolitos secundarios identificados en el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay” fueron: alcaloides, flavonoides, fenoles y/o taninos, esteroides, quinonas, cumarinas, saponinas y azúcares reductores.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, contiene compuestos fenólicos totales en promedio de  $260,3 \pm 1.17$  mg EAG/g de extracto seco.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, contiene flavonoides totales en promedio de  $34,2 \pm 0,76$  mg ERu/g de extracto seco.
4. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, presenta actividad antioxidante *in vitro* frente al radical DPPH con una concentración inhibitoria (CI<sub>50</sub>) de  $127,6 \pm 0,21$  µg/mL, esta difiere estadísticamente ( $p = 6,7 \text{ E-}23$ ) del trolox ( $38,8$  µg/mL).



## VII. RECOMENDACIONES

- Realizar el aislamiento de los metabolitos secundarios que se encuentran presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, responsables de la actividad antioxidante.
- Realizar la extracción de compuestos con actividad antioxidante con otros solventes y otras técnicas.
- Realizar estudios clínicos y farmacológicos para evaluar la eficacia y seguridad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”.
- Realizar estos estudios usando los frutos de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”.



## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gómez Ruiz LR. Evaluación de la actividad antioxidante en los extractos obtenidos por CO<sub>2</sub> supercrítico [Internet] [tesis]. [Bogotá, Colombia]: Universidad Distrital de Francisco José de Caldas; 2017 [citado 2 de marzo de 2018].
2. Oropeza Guerrero MP. Alcaloides totales y actividad antioxidante de extractos metanólicos de hojas de *Ipomoea murucoides* (casahuate) [Internet] [tesis]. [Oaxaca, México]: universidad tecnológica de la mixteca; 2012 [citado 5 de enero de 2018]. Disponible en: [http://jupiter.utm.mx/~tesis\\_dig/11616.pdf](http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/11616.pdf)
3. Roca BE. Descripción morfohistológica de tres especies de plantas altoandinas de Chacas Asunción, Ancash-Perú. [Internet] [tesis]. [Lima, Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2012 [citado 5 de noviembre 2017] disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/353/1/Roca\\_rb.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/353/1/Roca_rb.pdf)
4. Fernández JL. Nueva especie de *Condalia* Cav. (Rhamnaceae) y notas sobre los géneros de la familia en la flora de Colombia, rev. Caldasia. [Revista en internet] 2005, [acceso noviembre 2017] Vol. 19 (1-2): 101-108, disponible en: [http://digital.csic.es/bitstream/10261/32009/1/1997\\_Fern%C3%A1ndez-AlonsoCaldasi%20a19%281-2%29.pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/32009/1/1997_Fern%C3%A1ndez-AlonsoCaldasi%20a19%281-2%29.pdf)
5. Frontera MA, Tomás MA, Diez A, Watson C, Mulet C. Phytochemical Study of *Condalia microphylla* Cav. Rev. Molecules. [Revista en internet] 2000, [acceso noviembre 2017] Vol. 5, disponible en: <http://pdf.easechem.com/pdf/29/ab1439e3-9015-4575-a353-3e8e7752856c.pdf>
6. Zapata N, Ceballos R, Céspedes C, Alarcón J, Leytón A. Actividad insecticida y reguladora del crecimiento de extractos de *Blechnum chilense* (Blechnaceae) y *Condalia microphylla* Cav. (Rhamnaceae), sobre larvas de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. [Revista en internet] 2016, [acceso noviembre 2017] Vol. 15 (2): 77 - 87, disponible en: [http://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/articulo\\_1\\_-\\_985\\_-\\_77\\_-\\_87.pdf](http://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/articulo_1_-_985_-_77_-_87.pdf)
7. Auwal M, Koorbanally NA, Jepakorir J, Islam S. Anti-oxidative activities of the various extracts of stem bark, root and leaves of *Ziziphus mucronata* (Rhamnaceae) in vitro. Journal of Medicinal Plants Research. [Revista en internet] marzo 2012. [acceso noviembre 2017] Vol.6 (25), pp. 4176-4184, disponible en: <http://www.academicjournals.org/journal/JMPR/article-full-text-pdf/2E6481924122>
8. Goncalves I, Machado CR, Carvalho T, García M, Albarello N. Compact callus cultures and evaluation of the antioxidant activity of *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae) under in vivo and in vitro culture conditions. Journal of Medicinal Plants Research. [Revista en internet] setiembre-diciembre 2014. [acceso noviembre 2017] Vol. 9(1), pp. 8-15, 3, disponible en: <http://www.academicjournals.org/journal/JMPR/article-full-text-pdf/8092BDA50098>
9. Berroukche A, Kahloula K, Sliman M, Denai I, Ammour K. Hepatoprotective effects of the decoction and macerated leaves of *Rhamnus alaternus* L. on rats exposed to carbon tetrachloride. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy. [Revista en internet] agosto-octubre 2015. [acceso noviembre 2017] Vol. 7(10), pp. 253-262, disponible en: <http://www.academicjournals.org/journal/JPP/article-full-text-pdf/76671D055985>

10. Sousa C de M, Silva HR, Vieira-Jr GM, Ayres MCC, Costa C da, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quím Nova*. 2007; 30(2):351–355. <http://www.scielo.br/pdf/qn/v30n2/20.pdf>
11. Van Der T. El bosque de Condalia. *Caldasia*. Edic. Serbal S.A. Barcelona. 1996.
12. Tortosa R, Novara LJ. Rhamnaceae Juss. Aportes botánicos de Salta. *Ser Flora. Revista en internet* 2012 [acceso noviembre 2017]. Vol. 1 N° 13 ISSN 0327- 506X, disponible en: <http://eprints.natura.unsa.edu.ar/265/1/RHAMNACEAE.pdf>
13. León B. Rhamnaceae endémicas del Perú. *Rev. Perú. biol.* [Revista en internet] diciembre 2006 [acceso noviembre 2017]. Vol. 13(2): 582s, disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVrevistas/biologia/v13n2/pdf/a101.pdf>
14. Fernández R, Arreguín ML, Quiroz DL. Revisión del género *Condalia* (Rhamnaceae) en México. *Rev. Polibotánica*. [Revista en internet] mayo 2013 [acceso noviembre 2017]. Vol. N° 36, pp. 15-40, disponible en: <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sciarttext&pid=S140527682013000200002>
15. García Ramírez AE. Evaluación in vitro/in vivo de propiedades antioxidantes de clones promisorios de papa criolla (*Solanum phureja*) [Internet] [tesis]. [Bogotá - Colombia]: Universidad Nacional de Colombia; 2011 [citado 5 de enero de 2018]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/8675/1/andraelisagarciamirez.2011.pdf>
16. Carvajal Aguilar MG. Evaluación de la actividad antioxidante de las hojas y frutos de la Feijoa (*Acca Sellowiana*) [Internet] [tesis]. [Riobamba, Ecuador]: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015 [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/4007/1/56T00530%20UDCTFC.pdf>
17. Martínez Dotor J. Efecto del procesamiento en el contenido de Compuestos Fenólicos y las propiedades antioxidantes de diferentes variedades de Frijol (*Phaseolus Vulgaris* L) mexicano [Internet] [tesis]. [Toluca, México]: universidad autónoma del estado de México; 2013 [citado 5 de enero de 2018]. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/14379/407988.pdf?sequence=1>
18. Villanueva Bautista E. Contenido de betalaínas y determinación de la actividad antioxidante de accesiones de *Chenopodium quinoa* Willd" quinoa" del distrito de Tambillo-Ayacucho 2014 [Internet] [tesis]. [Ayacucho, Perú]: universidad nacional de san Cristóbal de huamanga; 2015 [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: [http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/977/Tesis%20B733\\_Vil.pdf?sequence=](http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/977/Tesis%20B733_Vil.pdf?sequence=)
19. Coavoy Sánchez IA. evaluación de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos de la tuna morada (*Opuntia ficus-indica*) del distrito de san bartolomé, huarochirí, lima. [Internet] [tesis]. [Lima - Perú]: universidad peruana union; 2015 [citado 5 de enero de 2018]. Disponible en: [http://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/232/lbethTesis\\_bachiller\\_2015.pdf?sequence=1](http://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/232/lbethTesis_bachiller_2015.pdf?sequence=1)
20. Muedas Taípe G. Estudio químico y de actividad antioxidante de la *Bauhinia guinensis* var. *kuntiana* Aubl. [Internet] [tesis]. [Lima, Peru]: PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ; 2013 [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: [http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/4794/MUEDAS\\_TAIPE\\_GOLFER\\_ACTIVIDAD\\_ANTIOXIDANTE\\_BAUHINIA\\_GUINENSIS.pdf?sequence=1](http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/4794/MUEDAS_TAIPE_GOLFER_ACTIVIDAD_ANTIOXIDANTE_BAUHINIA_GUINENSIS.pdf?sequence=1)

21. Bohórquez Fajardo R. Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas de *Diplostephium philycoides* (Kunth) Wedd [Internet] [tesis]. [Bogotá, Colombia]: universidad de ciencias aplicadas y ambientales u.d.c.a.; 2016 [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: <http://repository.udca.edu.co:8080/jspui/bitstream/11158/591/1/Determinaci%C3%B3n%20de%20actividad%20antioxidante%20Displostephium%20philycoide.pdf>
22. Cerón Martínez LJ, López Ledesma IA. extracción y cuantificación de compuestos con actividad antioxidante a partir de cascara de tres variedades de papa (*solanum tuberosum*) en el departamento de Nariño [Internet] [tesis]. [San Juan de Pasto, Colombia]: Universidad de Nariño; 2013 [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: <http://biblioteca.udenar.edu.co:8085/atenea/biblioteca/89552.pdf>
23. Montero M. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. Universidad Nacional de San Marcos. Anales de la Facultad de Medicina. 1996.; 57(4): 278-251.
24. Rice- Evans C, Packer L. Flavonoids in Health and disease. 2ª Edition. Marcel Dekker, Inc. USA. 2003.
25. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. Métodos en el Estudio de los Productos Naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2da Edición. Fondo Editorial; 1994.
26. Bruneton J. Plantas medicinales Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Primera edición. Editorial Acibria S.A. Zaragoza - España. 2001.
27. Villar M. Farmacognosia General. Editorial Síntesis. España. 1999.
28. Organización Mundial de la Salud. Buenas Prácticas Agrícolas y de Recolección de Plantas Medicinales. Directrices de un grupo científico de la OMS. Ginebra, 2003
29. Pérez F, Aponte GL, Ávalos FR, Núñez LV. Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. Pueblo cont. 2011;22(2):421-426.
30. Miranda M, Cuéllar A. Manual de Prácticas de laboratorio. Farmacognosia y Productos naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad de la Habana: Editorial Félix Varela; 2000.
31. Carpio Apaza RE, Figueroa Huayllapuma T. Efecto de la adición de goma arábica y maltodextrina en el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante en extracto de sancayo (*Corryocactus brevistylus*) liofilizado [Internet] [tesis]. [Arequipa - Perú]: universidad nacional de san Agustín de Arequipa; 2017 [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/3014/lacaapr.pdf?sequence=1>
32. Gómez Salguero D. Determinación de la capacidad antioxidante del aceite de híbrido de palma en diferentes estados de maduración [Internet] [tesis]. [Bogotá, Colombia]: pontificia universidad javeriana; 2014 [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/16066/GomezSalgueroDaniela2014.pdf?sequence=1>
33. palomino García IR. caracterización fisicoquímica y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos de Antioquia [Internet] [Tesis de maestría]. [Medellín, Colombia]: Universidad Nacional de Colombia; 2009 [citado 20 de marzo de 2018]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Lady\\_Palomino/publication/30757644\\_Caracterizacion\\_fisicoquimica\\_y\\_evaluacion\\_de\\_la\\_actividad\\_antioxidante\\_de\\_propoleos\\_de\\_Antioquia/links/58adf85545851503be91e803/Caracterizacion-fisicoquimica-y-evaluacion-de-la-actividad-antioxidante-de-propoleos-de-Antioquia.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Lady_Palomino/publication/30757644_Caracterizacion_fisicoquimica_y_evaluacion_de_la_actividad_antioxidante_de_propoleos_de_Antioquia/links/58adf85545851503be91e803/Caracterizacion-fisicoquimica-y-evaluacion-de-la-actividad-antioxidante-de-propoleos-de-Antioquia.pdf)
34. Gonzales L. Composición fenólica y actividad antioxidante de las hojas de *Mosiera crenulata* [Internet] [tesis]. [Cuba]: Universidad Central «Marta





handle/cybertesis/3943/Oliveira\_bg.pdf;jsessionid=0BFDC7C84DBFFDCB1E  
BEBD73A0F3A48D?sequence=1

46. Paladino SC. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*vitis vinífera* L.) [Internet] [Tesis]. [La Rioja, Colombia]: Universidad Nacional de Cuyo; 2012 [citado 8 de noviembre de 2018].



## **IX. ANEXOS**



**Anexo 1.** Certificado de identificación de *Condalia weberbaueri* Perk  
"ambrancay". Ayacucho 2017



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

**C E R T I F I C A**

Que, el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos  
y Fitomedicamentos "Marco A. Garrido Malo, 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:

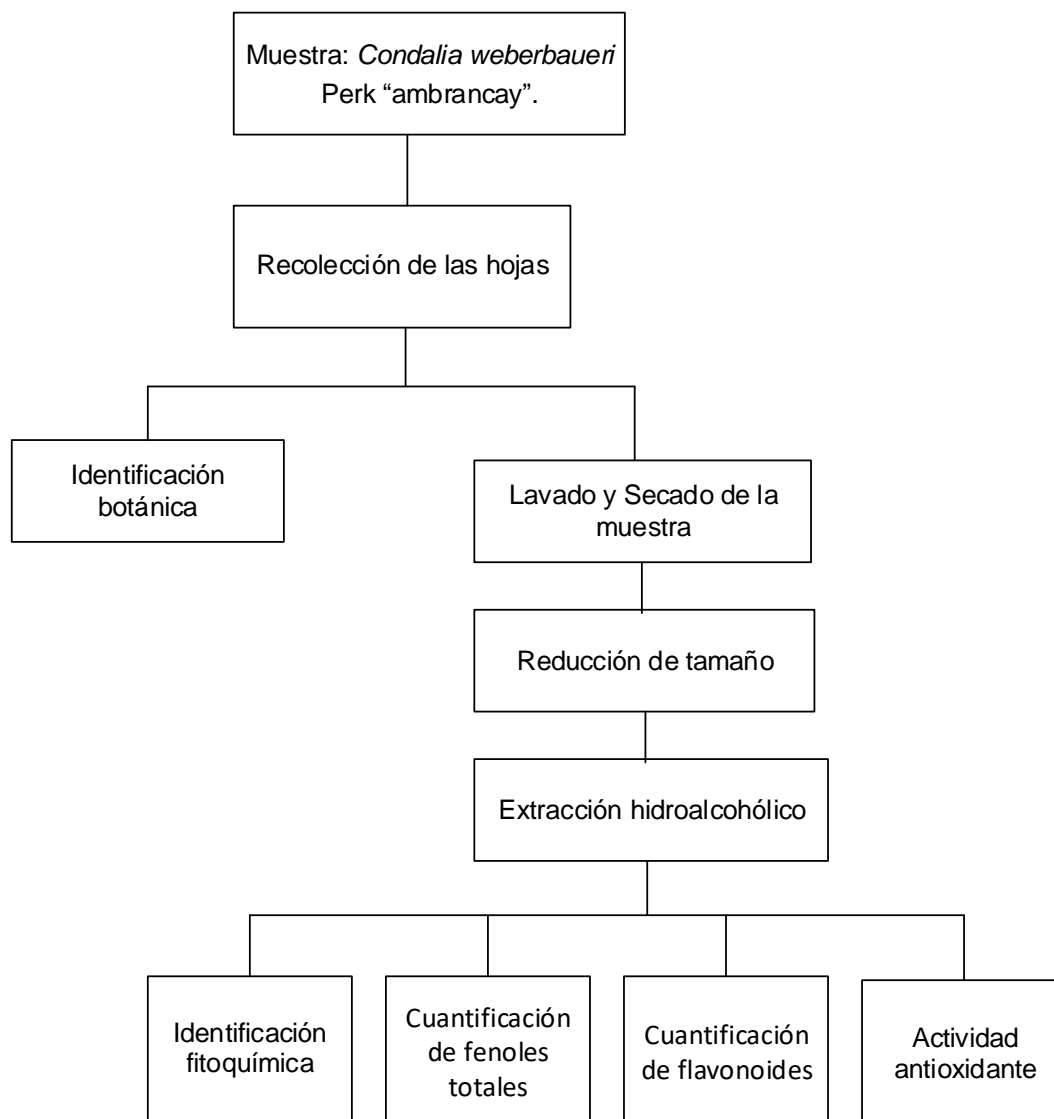
DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	RHAMNALES
FAMILIA	:	RHAMNACEAE
GENERO	:	Condalia
ESPECIE	:	<i>Condalia weberbaueri</i> Perk.
Nombre vulgar	:	"ambrancay"

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

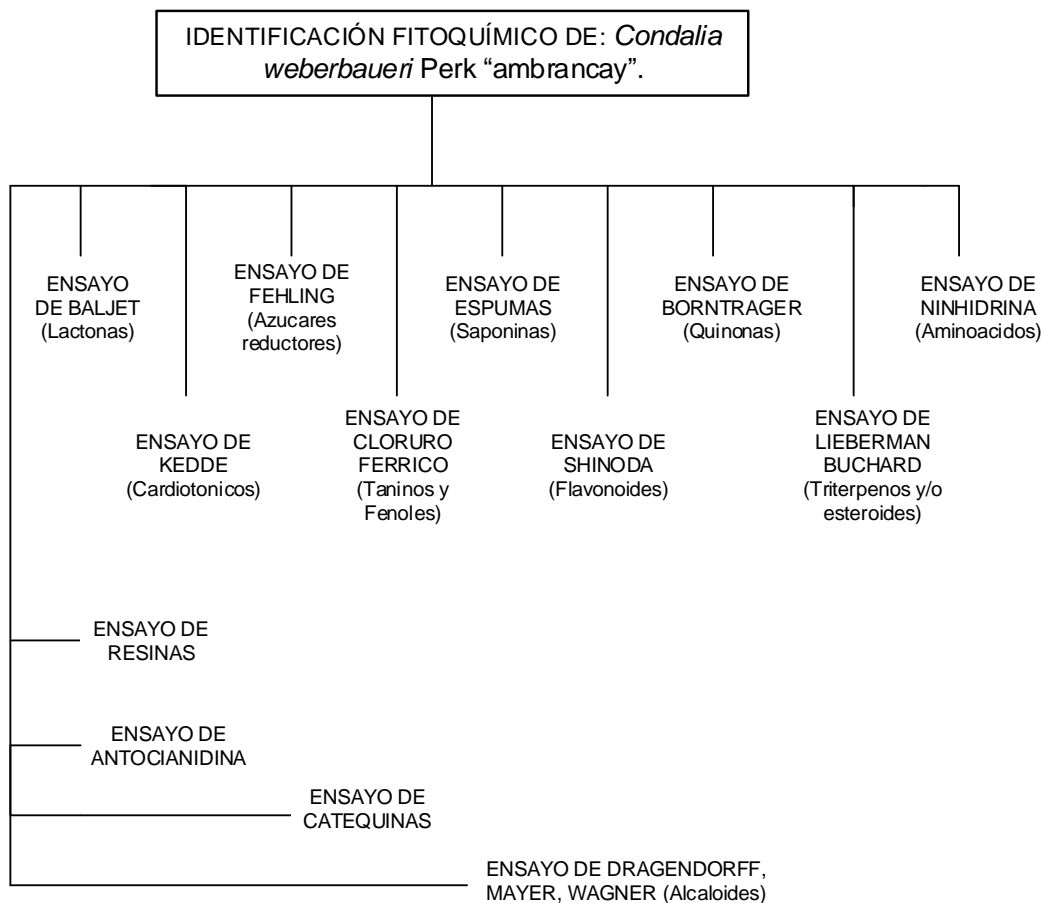
Ayacucho, 20 de Abril del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
  
Dña. Loreta Agustina Medina  
JEFE

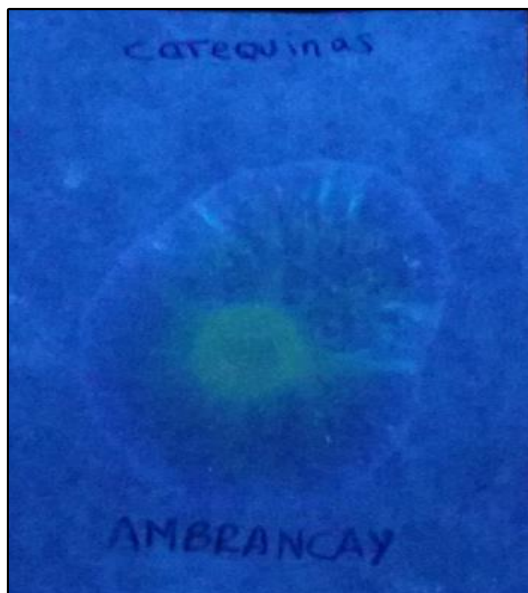
**Anexo 2.** Flujograma de procedimientos a seguir para la determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.



**Anexo 3.** Flujograma para la identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.



**Anexo 4.** Resultados de la identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk "ambrancay", Ayacucho 2018.

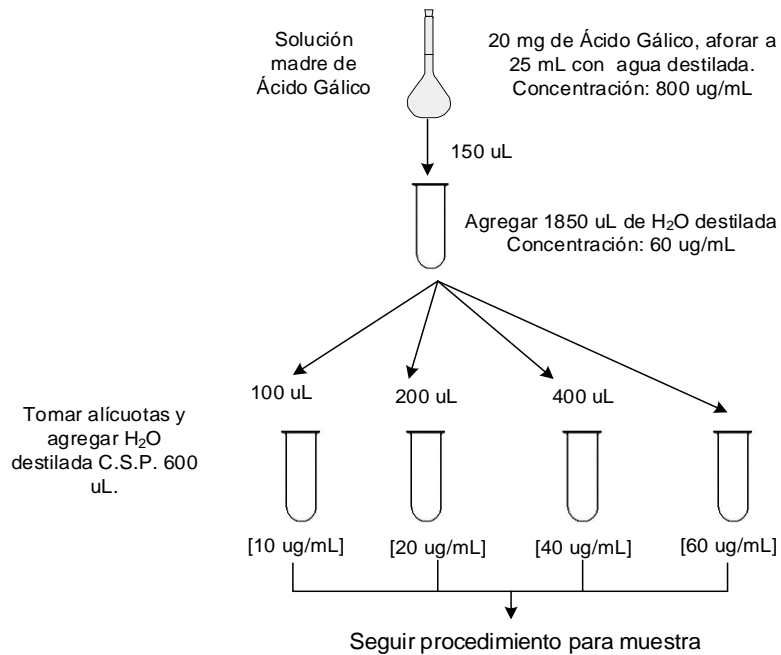




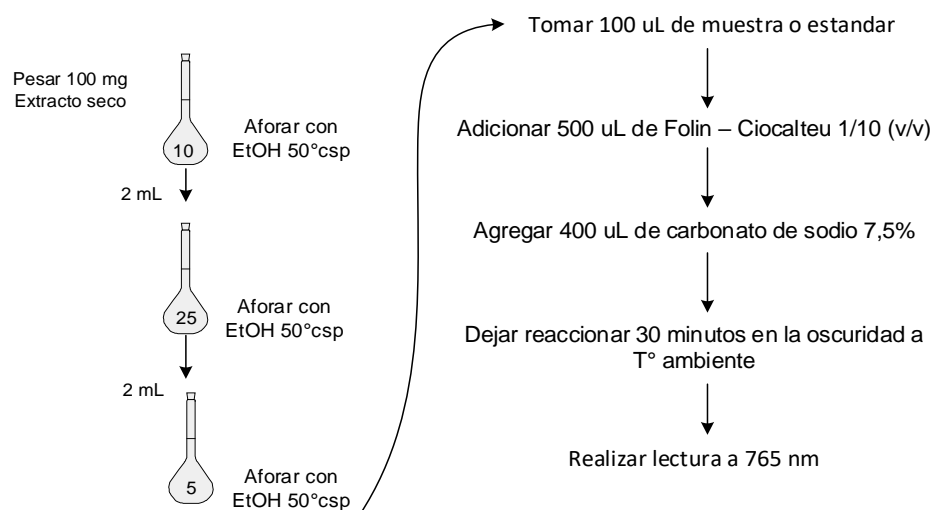
**Anexo 5.** Metodología para la cuantificación de fenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.

### CUANTIFICACION DE FENOLES TOTALES

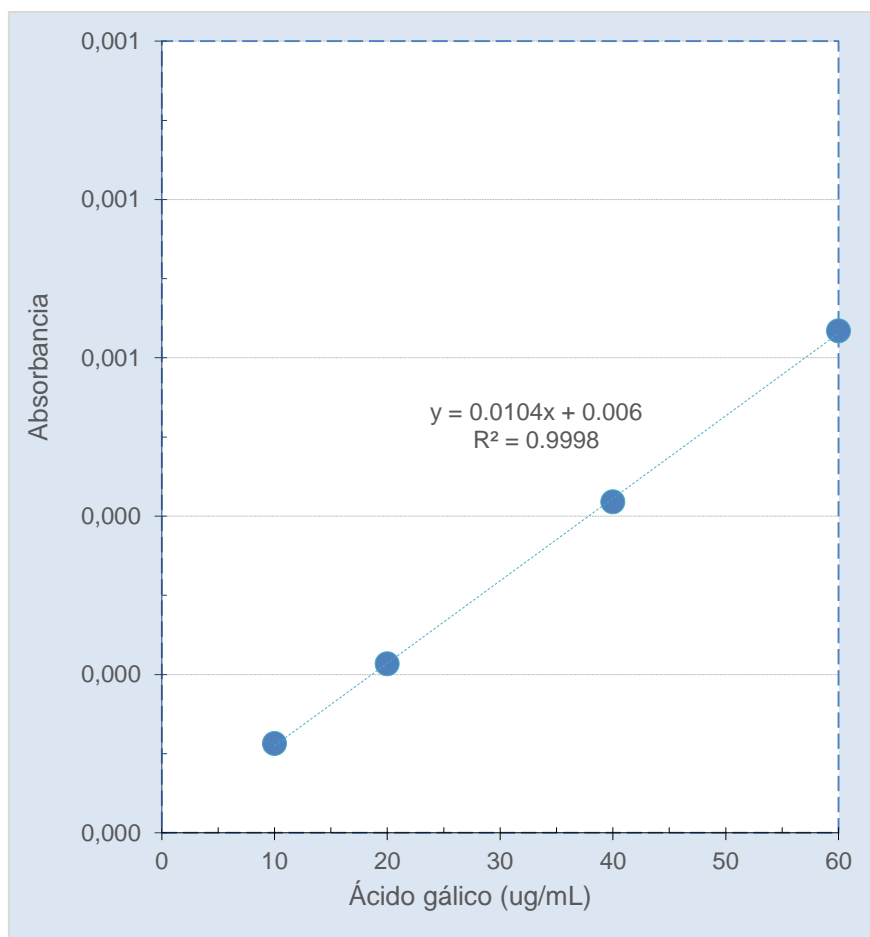
#### PREPARACION DE ESTANDARES



#### LECTURA DE MUESTRAS



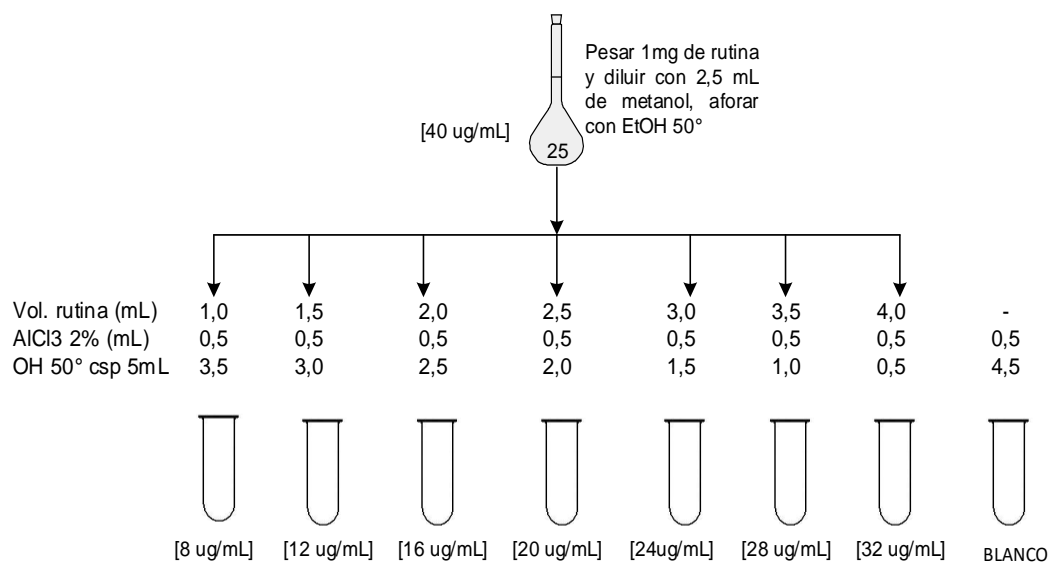
**Anexo 6.** Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.



**Anexo 7.** Protocolo para la determinación del contenido de flavonoides totales en del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.

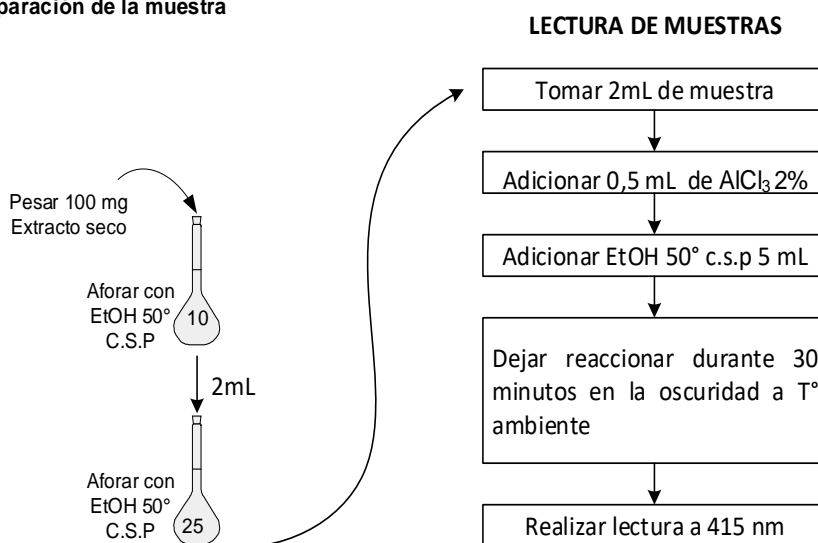
### CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

#### 1. Preparación de la curva de calibración de rutina

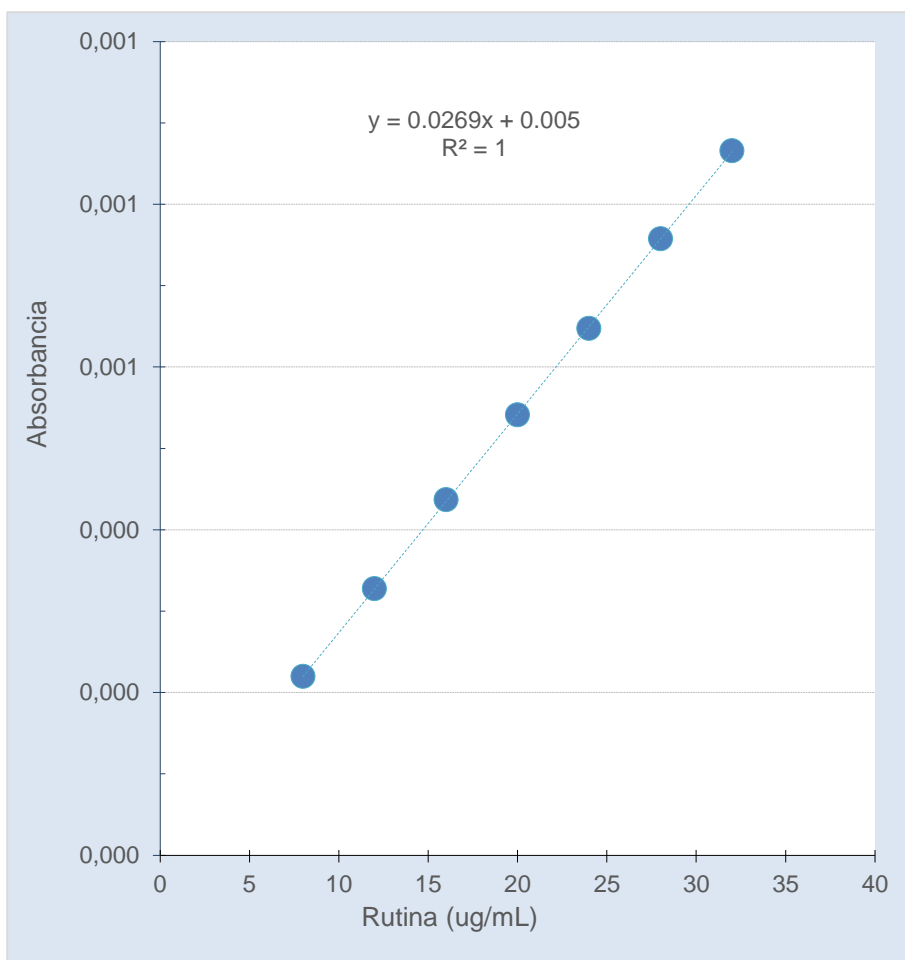


Dejar reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente y leer la Absorbancia a 415 nm.

#### 2. Preparación de la muestra



**Anexo 8.** Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.



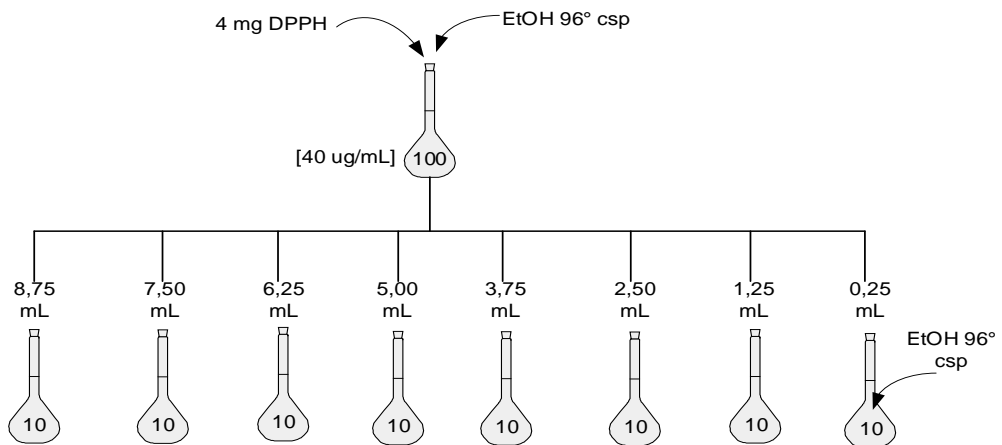
**Anexo 9.** Protocolo para la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.

### METODO DPPH

#### 1. Preparación de la solución de trabajo de DPPH

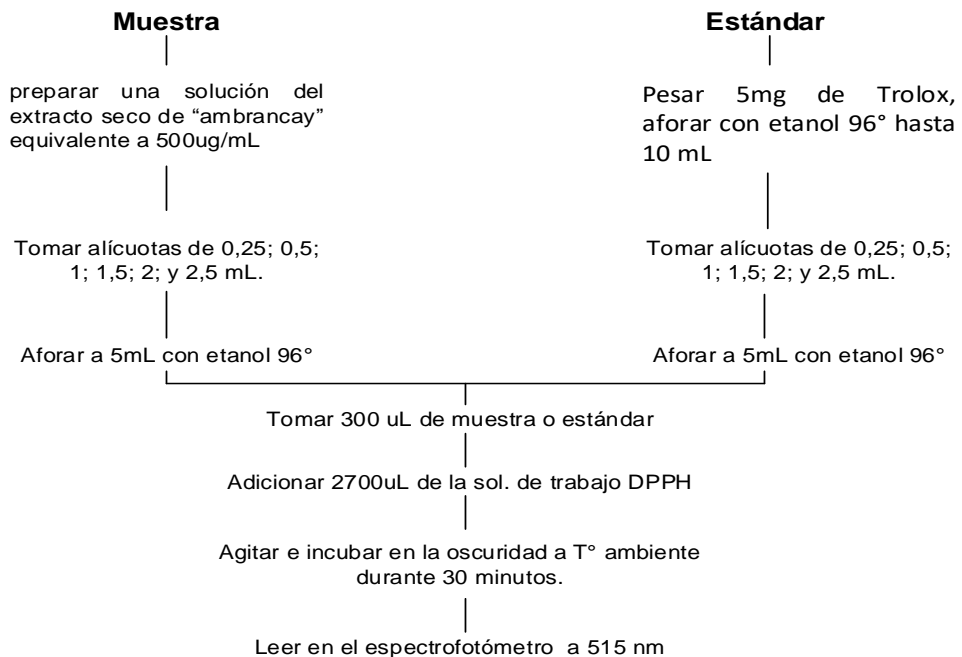
Pesar 4mg de DPPH, aforar a 100 mL con EtOH 96°.

#### 2. Preparación de la curva de calibración de DPPH



Leer la Absorbancia a 515 nm, calibrar el espectrofotómetro con EtOH 96°.

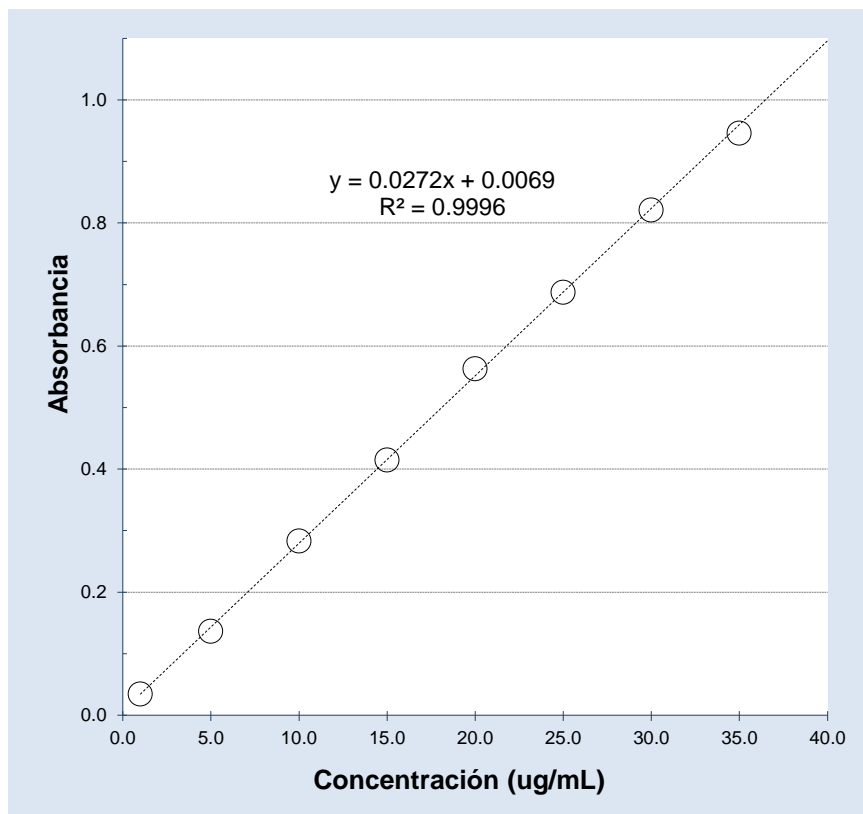
#### 3. Determinación de la actividad antioxidante



**Anexo 10.** Determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.



**Anexo 11.** Curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante, según el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk "ambrancay". Ayacucho 2018.



**Anexo 12.** Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.

<b>%AA</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Entre grupos	14043,0	5,0	2808,6	18618,5	6,7 E-23
Dentro de grupos	1,8	12,0	0,2		
Total	14044,8	17			

Si: Sig. > 0,05; estadísticamente no significativo

Si: Sig. < 0,05; se considera significativo desde un punto de vista estadístico



**Anexo 13.** Prueba de Levene de igualdad de varianzas del CI50, mediante la captación del radical DPPH del extradcto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.

	Prueba de Levene de igualdad de varianzas		Prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	2,06	0,2242	-416,05	4	2,00247E-10	-88,8	0,21	-89,39	-88,21
No se asumen varianzas iguales			-416,05	2,427	0,0000	-88,8	0,21	-89,58	-88,02

Sig. bilateral = p

Si  $p < 0,05$ ; se considera significativo desde un punto de vista estadístico.

**Anexo 14.** Comparación múltiple de DUNCAN de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”, Ayacucho 2018.

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA					
		1	2	3	4	5	6
<i>C. weberbaueri</i> 25 ug/mL	3	9,9					
<i>C. weberbaueri</i> 50 ug/mL	3		18,8				
<i>C. weberbaueri</i> 100 ug/mL	3			35,0			
Trolox 25 ug/mL	3				25,4		
Trolox 50 ug/mL	3					43,1	
Trolox 100 ug/mL	3						94,4
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Se muestran las medias para los grupos en los subgrupos homogéneos

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000

## Anexo 15. Matriz de consistencia.

**TÍTULO:** Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de las hojas de *Condalia weberbaueri* Perk “ambrancay”. Ayacucho 2018.

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
<p>¿Cuál será el contenido de fenoles totales y flavonoides de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”?</p> <p>¿Tendrá actividad antioxidante el <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”?</p>	<p><b>General</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluar la actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”, Ayacucho 2018.</li> </ul> <p><b>Específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cuantificar el contenido de fenoles totales de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”.</li> <li>• Cuantificar el contenido de flavonoides totales de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”.</li> <li>• Evaluar la actividad antioxidante <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”.</li> </ul>	<p>El <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”, es una fuente de compuestos bioactivos, tales como fenoles y flavonoides, con actividad antioxidante.</p>	<p><b>Variable 1</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fenoles totales</li> </ul> <p><b>Indicador</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Equivalentes de ácido gálico (mg/g)</li> </ul> <p><b>Variable 2</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavonoides totales</li> </ul> <p><b>Indicador</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Equivalentes de rutina (mg/g)</li> </ul> <p><b>Variable 3</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Actividad antioxidante</li> </ul> <p><b>Indicadores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Porcentaje de inhibición (%), TEAC</li> </ul>	<p>Antecedentes <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”</p> <p>Estrés oxidativo</p> <p>Radicales libres</p> <p>Compuestos fenólicos</p> <p>Antioxidantes</p> <p>Metodología para la actividad antioxidante</p>	<p><b>Población:</b> Hojas de <i>Condalia weberbaueri</i> Perk “ambrancay”, que crecen en la Picota</p> <p><b>Muestra:</b> 1 kg de hojas frescas.</p> <p><b>Muestreo:</b> no probabilístico o por conveniencia</p> <p><b>Recolección de la muestra</b></p> <p><b>Secado, molienda y extracción</b></p> <p><b>Tamizaje fitoquímico:</b> según del método de Pérez et al., (2011)<sup>29</sup>.</p> <p><b>Cuantificación de fenoles totales:</b> según el método de Folin Ciocalteu.</p> <p><b>Cuantificación de flavonoides totales:</b> según el método espectrofotométrico según el método de cloruro de aluminio</p> <p><b>Actividad antioxidante:</b> según el método DPPH.</p> <p><b>Análisis de datos</b></p> <p>Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) utilizando un nivel de significancia del 95%.</p>

