

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



Contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad  
antioxidante de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga",  
Ayacucho 2018.

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

PRESENTADO POR LA:

**Bach. BERROCAL GRACIANO, SANDRA KARINA**

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 hija 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.

A todas las personas que me brindaron su apoyo en la conducción del presente trabajo de investigación, cuyos esfuerzos se materializan en este informe.



## ÍNDICE

	<b>Página</b>
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes	5
2.3. Radicales Libres	14
2.5. Estrés oxidativo	15
2.6. Antioxidantes	15
2.7. Compuestos fenólicos	16
2.7.2. Biosíntesis de los fenoles	18
2.7.4.1. Biosíntesis de flavonoides	21
2.9. Medición de la actividad antioxidante	24
2.9.1. Método DPPH	25
2.9.2. Método ABTS	25
III. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	27
3.2. Definición de población y muestra	27
3.2.1. Población	27
3.2.2. Muestra	27
3.2.3. Unidad de análisis	27
3.2.4. Sistema de muestreo	27
3.3. Metodología y recolección de datos	27
3.3.1. Recolección e identificación de la muestra vegetal	27
3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico	28
3.3.3. Identificación de compuestos químicos del extracto hidroalcohólico	28
3.3.4. Determinación del contenido de fenoles totales	28
3.3.5. Cuantificación de flavonoides totales	29

3.3.6	Determinación de la actividad antioxidante	30
3.3.6.1	Método de radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)	30
3.3.6.2	Método del Radical 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS)	31
IV.	RESULTADOS	33
V.	DISCUSIÓN	41
VI.	CONCLUSIONES	47
VII.	RECOMENDACIONES	49
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
IX.	ANEXOS	57



## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. “ñuñunga	11
<b>Tabla 2.</b> Clasificación de los modelos de ensayo <i>in vitro</i> según su modo de reacción ET y HAT.	24
<b>Tabla 3.</b> Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>solanum nitidum</i> R. & P. “ñuñunga”, Ayacucho 2018.	35
<b>Tabla 4.</b> Concentración inhibitoria 50 (CI <sub>50</sub> ) del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>solanum nitidum</i> R. & P. “ñuñunga”, Ayacucho 2018.	39



## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> <i>Solanum nitidum</i> R. & P. “ñuñunga”.	12
<b>Figura 2.</b> Clasificación de los compuestos fenólicos.	17
<b>Figura 3.</b> Estructura básica del fenol	18
<b>Figura 4.</b> Biosíntesis de fenoles	19
<b>Figura 5.</b> Estructura de los ácidos benzoicos	20
<b>Figura 6.</b> Estructura química del ácido gálico	21
<b>Figura 7.</b> Núcleo básico de los flavonoides.	21
<b>Figura 8.</b> Biosíntesis de flavonoides	22
<b>Figura 9.</b> Estructura química de los flavonoides.	23
<b>Figura 10.</b> Estructura química de la rutina.	23
<b>Figura 11.</b> Mecanismo de reacción del DPPH con sustancias antioxidantes (AH)	25
<b>Figura 12.</b> Mecanismo de reacción para el ensayo ABTS.	26
<b>Figura 13.</b> Contenido de fenoles totales y flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>solanum nitidum</i> R. & P. “ñuñunga”, Ayacucho 2018.	36
<b>Figura 14.</b> Porcentaje de actividad antioxidante mediante el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>solanum nitidum</i> R. & P. “ñuñunga”, Ayacucho 2018	37
<b>Figura 15.</b> Porcentaje de actividad antioxidante mediante el método ABTS del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>solanum nitidum</i> R. & P. “ñuñunga”, Ayacucho 2018.	38



## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Página</b>
<b>Anexo 1.</b> Certificado de identificación de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2017.	53
<b>Anexo 2.</b> Fotografía de las hojas, flores y frutos de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018	54
<b>Anexo 3.</b> Flujograma de procedimientos a seguir para la determinación de la actividad antioxidante de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.	55
<b>Anexo 4.</b> Identificación fitoquímica del extracto seco de las hojas de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.	56
<b>Anexo 5.</b> Resultados de la identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.	57
<b>Anexo 6.</b> Metodología para cuantificación de fenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.	58
<b>Anexo 7.</b> Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.	59
<b>Anexo 8.</b> Protocolo para la determinación del contenido de flavonoides totales en del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.	60
<b>Anexo 9.</b> Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.	61
<b>Anexo 10.</b> Protocolo para la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.	62
<b>Anexo 11.</b> Curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante, según el método DPPH del extracto	63

	hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.	
<b>Anexo 12.</b>	Comparación de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH.	64
<b>Anexo 13.</b>	Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.	65
<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>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.	66
<b>Anexo 15.</b>	Protocolo para la determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS, del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.	67
<b>Anexo 16.</b>	Comparación de la actividad antioxidante mediante la captación del radical ABTS.	68
<b>Anexo 17.</b>	Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical ABTS del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.	69
<b>Anexo 18.</b>	Comparación múltiple de DUNCAN de la actividad antioxidante mediante la captación del radical ABTS del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nitidum</i> R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.	70
<b>Anexo 19.</b>	Matriz de consistencia	71

## RESUMEN

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, actuando como donador de electrones (agente reductor). El objetivo fue evaluar la actividad antioxidante, contenido de fenoles totales y flavonoides totales de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga". su ejecución se realizó en los laboratorios del 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 - septiembre del 2018. La investigación es básica descriptiva. Las muestras de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", fueron recolectadas al azar, durante el mes de enero de la comunidad de Huaraca, anexo de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. Para la determinación de la actividad antioxidante se utilizó los métodos espectrofotométricos de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y ABTS (2,2-Azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfónico), así mismo para la cuantificación de fenoles y flavonoides se utilizó el método espectrofotométrico de folin - ciocateau y cloruro de aluminio respectivamente. El método usado para la identificación fitoquímica fue el ensayo de coloración y precipitación, donde se pudo evidenciar la presencia de taninos, flavonoides, saponinas, catequinas, cumarinas, alcaloides y quinonas. El contenido de fenoles totales y flavonoides fue de  $177,0 \pm 0,42$  mg equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mg EAG/g ES) y  $45,6 \pm 0,13$  mg equivalentes de rutina por gramo de extracto seco (ERu/g ES) respectivamente. La concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga" sobre el radical DPPH y ABTS fueron de  $228,8 \pm 0,36$  y  $544,8 \pm 0,57$  μg/mL respectivamente.

**Palabras claves:** Actividad antioxidante, *solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", fenoles totales, flavonoides, DPPH, ABTS.





## 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>

Por otro lado como resultado del metabolismo, algunos organelos celulares como mitocondrias, lisosomas, peroxisomas, membrana nuclear citoplasmática y retículo endoplasmático, originan radicales libres, como las especies reactivas del oxígeno (ROS): superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ), piróxilo ( $R-OO^{\cdot}$ ), alcoxilo ( $RO^{\cdot}$ ) e hidroperoxilo ( $HOO^{\cdot}$ ), y las especies reactivas del nitrógeno (RNS): óxido nítrico (NO), dióxido de nitrógeno ( $NO_2$ ) y peróxido de nitrato. Sin embargo, estos también pueden generarse por factores externos como contaminación ambiental, exposición a radiación y productos químicos como medicamentos, aditivos alimenticios, pesticidas, herbicidas, tabaco, entre otros.<sup>2</sup>

Estos radicales atacan moléculas como aminoácidos, carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Para contrarrestar su efecto, las células han desarrollado mecanismos de protección y reparación del daño, como la

producción de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, NADPH-quinona oxidoreductasa y epóxido hidrolasa, también metabolitos antioxidantes que atrapan y neutralizan los radicales libres; sin embargo, resultan insuficientes para protegerlas completamente.<sup>2</sup>

Cuando los oxidantes superan la cantidad de antioxidantes ocurre el estrés oxidativo, que provoca daños importantes en biomoléculas y componentes celulares, lo cual está asociado a enfermedades crónicas degenerativas como Alzheimer, Parkinson, arterioesclerosis, cáncer, artritis, desordenes neurodegenerativos, enfermedades coronarias y envejecimiento.<sup>2</sup>

Se ha demostrado que los componentes fenólicos son los principales antioxidantes derivados de plantas. 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>

Además, los antioxidantes naturales son apreciados porque pueden ser usados en el diseño de alimentos benéficos para la salud (funcionales o nutraceuticos), la importancia de los antioxidantes es crucial para la salud, debido a su capacidad de neutralizar radicales libres, que contienen uno o más electrones desapareados, siendo responsables de muchas enfermedades degenerativas, cataratas, arterioesclerosis, muerte celular y cáncer, asimismo por su capacidad de eliminar y atrapar potencialmente a los electrones dañados del ADN, metales tóxicos, hasta la inhibición de enzimas activadoras de pre carcinógenos, hasta carcinógenos. El antioxidante al colisionar con el radical libre le cede un electrón, oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil no tóxico.<sup>3</sup>

Debido a que el rechazo es cada vez mayor por parte de los consumidores hacia el uso de antioxidantes sintéticos; como por ejemplo el BHA y el BHT y, además, dadas las restricciones legales levantadas hacia estos productos, se ha potenciado el empleo de antioxidantes naturales, libres de compuestos químicos sintéticos, como los ácidos fenólicos, los flavonoides y tocoferoles.<sup>3</sup>

Para el extracto atomizado de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga". Se ha reportado la presencia de fenoles y flavonoides. Estos hallazgos sugieren la utilidad del extracto de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga". como antioxidante natural en lugar de los antioxidantes sintéticos para la conservación

de alimentos de origen graso y aceites, con la ventaja de que al ser un producto natural no tendría efectos tóxicos que se observan con los compuestos sintéticos.<sup>12</sup>

Debido a lo anterior, es importante la búsqueda de productos naturales con propiedades antioxidantes que al incluirse en la dieta diaria contribuyan a mantener la salud, al prevenir y curar enfermedades, siendo interesante el estudio de especies vegetales que poseen potencial medicinal. Existen muchas especies medicinales entre ellos el género *solanum* que tiene agentes antioxidantes como fenoles y flavonoides.

El presente trabajo de investigación se realizó en el marco del Proyecto FOCAM: Contribución a la mejora de la calidad de recursos naturales terapéuticos, productos y medicamentos herbarios con potencialidad económica del Distrito de Vinchos, Ayacucho 2015

## **1.1. Objetivos**

### **1.1.1. Objetivo general**

- Evaluar la actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga". Ayacucho, 2018.

### **1.1.2. Objetivos específicos**

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga".
- Cuantificar el contenido de fenoles totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga".
- Cuantificar el contenido de flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga".
- Evaluar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga".



## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

Sousa et al.<sup>4</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  $EC_{50}$  de  $27,59 \pm 0,82$   $\mu\text{g} / \text{ml}$ , fue comparable a la rutina ( $EC_{50} = 27,80 \pm 1,38$ ) y ácido gálico ( $EC_{50} = 24,27 \pm 0,31$ ), 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*.

Zaquinaula<sup>5</sup>, en su trabajo de investigación titulado capacidad antioxidante en alimentos tradicionales, determinó la capacidad antioxidante mediante los métodos espectrofotométricos de poder antioxidante reductor del hierro (FRAP), ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS<sup>+</sup>) y 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). En esta investigación se trabajó con tres especies vegetales las cuales incluyeron 2 legumbres distintas: *Vigna unguiculata* "Firiguelo" y *Dolichos lablab* "Zarandaja"; y un pseudocereal: *Amaranthus spp* "Amaranto". Se analizó muestras de distinto lugar de procedencia. Se realizaron extracciones secuenciales con metanol/agua (50:50 v/v) y acetona/agua (70:30 v/v) y ambas extracciones se combinaron, y a partir de ésta se cuantifico la

capacidad antioxidante. Las muestras de firiguelo provenientes del cantón Macará de la ciudad de Loja presentaron el mayor potencial antioxidante según los métodos ABTS (27,5  $\mu\text{mol ET/g BS}$ ), DPPH (27,8  $\mu\text{mol ET/g BS}$ ), FRAP (18,3  $\mu\text{mol ET/g BS}$ ) y contenido de fenoles totales (288mg EAG/100g BS). Todas las muestras estudiadas demostraron ser fuentes importantes de antioxidantes, sin embargo, varía la capacidad antioxidante dependiendo del lugar de procedencia de la muestra,

Alarcón<sup>6</sup>, presentó el siguiente trabajo de investigación titulado actividad antioxidante y biológica de extractos de maíz azul (*zea mays L.*). En este estudio se determinó la actividad antioxidante y la concentración de polifenoles y antocianinas en 16 muestras de maíz azul provenientes de la Mixteca Oaxaqueña. La actividad antioxidante, el contenido de antocianinas y la concentración de fenoles totales fueron determinados por el método de DPPH, FRAP, Folin y Ciocalteau, y pH diferencial. La actividad antioxidante, mediante el método de DPPH, osciló entre 18.1 a 27.8  $\mu\text{mol ET/g}$  y mediante el método de FRAP entre 6.5 a 11.8  $\mu\text{mol ET/g}$ . El contenido de polifenoles totales se encontró en un intervalo de 142.8 a 203.2 mg de EAG/100g de muestra. El total de antocianinas osciló entre 21.4 a 66.9 mg cianidina 3-glucósido/100 g de muestra.

Vintimilla<sup>7</sup>, en su trabajo de investigación titulado actividad antioxidante de las fracciones lipofílicas e hidrofílicas de los subproductos agroindustriales de mango. Determinó la actividad antioxidante in vitro de subproductos agroindustriales de mango: piel y pulpa adherida a la piel, para así poder comparar el aporte de las fracciones hidrofílicas y lipofílicas; para esto primero se realizó la obtención de diferentes extractos, variando tamaños de partícula y tiempos de extracción, luego de ello se determinó la actividad antioxidante de cada uno utilizando los métodos DPPH, ABTS y FRAP, así como el contenido de fenoles totales, encontrando una relación directamente proporcional entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos. La actividad antioxidante más favorable de la fracción lipofílicas se obtuvo a 24 horas con un tamaño de partícula  $>125<250 \mu\text{m}$ , los valores fueron: DPPH 4,649  $\mu\text{mol TE/g MS}$ , ABTS 4,979  $\mu\text{mol TE/g MS}$ , FRAP 3,589  $\mu\text{mol TE/g MS}$ ; y fenoles totales 50,8 mg GAE/100 g MS. La mayor actividad antioxidante de la fracción hidrofílica correspondió a la extraída con etanol, se obtuvo a 3 horas con un tamaño de partícula  $>355<500 \mu\text{m}$ , para DPPH 162,4  $\mu\text{mol TE/g MS}$ , ABTS 181,9  $\mu\text{mol TE/g MS}$ , FRAP 71,5  $\mu\text{mol TE/g MS}$  y fenoles totales 1727,31 mg GAE/100 g MS.

Gonzales<sup>8</sup>, presentó el siguiente trabajo de investigación titulado Composición fenólica y actividad antioxidante de las hojas de *Mosiera crenulata*. Se evaluó *in vitro* la actividad antioxidante mediante los ensayos: secuestro del radical DPPH, poder reductor/antioxidante férrico (FRAP). Los fenoles, flavonoides y taninos fueron los principales metabolitos identificados. El extracto metanólico posee mayor contenido de compuestos fenólicos (658,21 mgEAG/gES) y el de acetato de etilo mayor contenido de flavonoides (286,7 mgER/gES). El contenido de taninos fue de 1,67%. Los extractos mostraron actividad antioxidante *in vitro*, siendo el metanólico el de mejores resultados en los ensayos que evaluaron la actividad antiradicalaria (Secuestro del radical 2,2-difenil-1-picril-hidracilo) y el de acetato de etilo el que mostró mejor actividad en los ensayos que midieron la actividad quelante (ensayo del poder reductor/antioxidante férrico (FRAP).

Valenzuela<sup>9</sup>, en su trabajo de investigación titulado evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de diferentes genotipos de *Ugni Molinae* Turcz. En este estudio se realizó un análisis comparativo respecto a la capacidad antioxidante (ensayo FRAP), el contenido fenólico total (CFT) (ensayo de Folin-Ciocalteu) y el contenido de flavonoides (ensayo colorimétrico con  $AlCl_3$ ) de extractos etanólicos seriados (EETs) de hojas de 10 genotipos de murtila (8-2, 14-4, 19-1, 19-1ha, 22-1, 23-2, 27-1, 31-1 y ZF-18), los cuales fueron cultivados bajos las mismas condiciones. De acuerdo a los resultados obtenidos, los extractos etanólicos seriados de los 10 genotipos presentaron diferencias significativas entre sí ( $p < 0,05$ ), siendo el extracto etanólico ZF-18 el que obtuvo el mayor contenido de fenoles totales, ( $260,6 \pm 3,7$  mg EAG/g ES) y el genotipo 31-1 el que obtuvo la mayor cantidad de flavonoides ( $53,5 \pm 0,8$  mg quercetina/g ES). En relación a la actividad antioxidante, los extractos etanólicos seriados de los genotipos ZF-18 y 27-1 fueron los que obtuvieron los mayores valores FRAP en todos los distintos tiempos de medición, con un máximo de  $5,40 \pm 0,12$  y  $4,93 \pm 0,05$  mmol  $Fe^{2+}$ /g ES a los 60 minutos, respectivamente.

Cárdenas<sup>10</sup>, en su trabajo de investigación titulado actividad antimicrobiana y antioxidante del extracto etanólico de *Prosopis pallida* "algarrobo". Para la evaluación de dichas actividades se obtuvo el extracto etanólico de las hojas, vaina (pulpa) y semillas. El contenido de polifenoles totales fue determinado por el método de Folin- Ciocalteu. La actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión en agar frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,

*Escherichia coli* ATCC 8739, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y la concentración mínima inhibitoria (CMI) por el método de microdilución colorimétrico en microplaca. La actividad antioxidante se determinó utilizando los métodos del radical libre 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) y el método del radical ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin) -6-sulfónico (ABTS). Las hojas de *Prosopis pallida* presentó mayor contenido de compuestos fenólicos expresado como 8,39 mg/Eq de ácido gálico /g de extracto seco. El extracto etanólico de las hojas de *Prosopis pallida* presentó actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con un CMI = 1000 µg/mL y frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 con un CMI= 62,5 µg/mL. Los extractos de las hojas, vaina (pulpa) y semillas según el método DPPH presentaron una concentración efectiva media (EC50) de 456,75 µg/mL; 392,15 µg/mL y 309,10 µg/mL; para el ensayo de ABTS mostraron un EC50 de 4,7mg/mL; 10,39 mg/mL y 9,90 mg/mL respectivamente.

Aparcana<sup>11</sup>, en su trabajo de tesis titulado capacidad antioxidante de los extractos etanólicos del fruto de *Physalis peruviana* "aguaymanto" de diferentes lugares geográficos del Perú. Se cuantificó el contenido de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos del fruto de "aguaymanto", provenientes de Ancash, Junín, Cajamarca y Huánuco, por los métodos del DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo) y ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico). El fruto de *Physalis peruviana* L. procedente de Huánuco presentó mayor contenido de compuestos fenólicos expresados como 149,3 ± 1,62 mg/Eq de ácido gálico/100 g de fruto por el método de Folin-Ciocalteu. Asimismo, se obtuvo mayor capacidad antioxidante determinado por el método del DPPH obteniendo como concentración inhibitoria IC50 1,86 mg/mL y por el método del ABTS obteniendo como concentración inhibitoria IC50 1,29 mg/mL. El fruto proveniente de Huánuco presentó mayor capacidad antioxidante comparado con los frutos provenientes de Junín, Cajamarca y Ancash.

Pérez.<sup>12</sup>, en su trabajo de tesis titulado actividad cicatrizante del cremigel elaborado a base del extracto atomizado de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga". Para la determinación del efecto cicatrizante se utilizó el método de Montón J. Se realizó la marcha fitoquímica del extracto atomizado, identificando la presencia de taninos, flavonoides, saponinas, catequinas, alcaloides y quinonas; mientras que sus parámetros fisicoquímicos evaluados fueron: polvo fino, color verde, sabor amargo, 7,45% de humedad, 2,24% de cenizas totales,



muy solubles en agua. Se concluyó que el cremigel elaborado al 1%, 2% y 4% tuvo un mejor efecto cicatrizante en comparación al estándar Dermaclín plus®.

## **2.2. Familia solanáceae**

La familia *Solanaceae* se localiza geográficamente de manera preponderante en el trópico y se le encuentra también en las regiones templadas. Hay alrededor de 40 géneros y más de 2000 especies, de las que 1700 se encuentran en un solo género, *Solanum*.<sup>13</sup>

En esta familia se encuentran incluidas muchas plantas tóxicas y narcóticas, como la *Atropa belladonna*, el toloache. Incluso plantas tan comunes como el tomate se consideraron durante mucho tiempo como venenosas, como lo indica el nombre científico *Lycopersicon*, que significa “durazno de los lobos”. Hay muchas hierbas erectas y trepadoras en la familia, así como arbustos y pequeños árboles.<sup>13</sup>

La familia también incluye plantas nocivas como el tabaco (*Nicotiana tabacum*), el toloache (*Datura innoxia*), la mandrágora (*Mandragora*), el beleño (*Hyoscyamus niger*) y la belladona (*Belladonna*); algunas plantas de ornato como la petunia (*Petunia*), y varias plantas con altas cantidades de alcaloides que sirven para la fabricación de fármacos como la cortisona, los esteroides y las pastillas anticonceptivas.<sup>13</sup>

Generalmente, la flor es el carácter más confiable para identificar miembros de la familia, además, es el atributo más difícil de modificar por la mano del hombre. En el caso de las *Solanaceae*, la flor presenta una corola de cinco pétalos unidos en tonos de blanco, rosa, amarillentos o morados, según la especie examinada.<sup>13</sup>

El nombre de esta familia de plantas proviene del latín solamen, que quiere decir confortar o calmar y se refiere a las propiedades sedativas de algunas de las especies. Una de las características de esta familia de plantas es la presencia de alcaloides que pueden estar presentes en el follaje y en el fruto en estado inmaduro. Estos compuestos pueden ser tóxicos para el hombre y los animales, causando envenenamientos y hasta la muerte de individuos que las hayan ingerido. Las *Solanaceae* son plantas tranquilizantes en extremo, ya que en ocasiones produce efectos mortales.<sup>13</sup>

### **2.2.1. Química de solanáceas**

Químicamente, las solanáceas han sido ampliamente estudiadas, principalmente durante la década de los 60. Durante este tiempo se descubrieron varias moléculas novedosas como esteroides, saponinas, glicósidos y alcaloides en raíces, tallos y hojas. De todas las moléculas antes mencionadas, son los

alcaloides a quienes se ha dado una importancia especial ya que éstos han mostrado presentar la mayor actividad en todos los casos.<sup>13</sup>

Dentro de los grupos más importantes de metabolitos secundarios identificados en la familia solanaceae se encuentran los alcaloides (nicotina, escopolamina, nomicotina), terpenos (capsidiol, dihidrocapsenona), componentes fenólicos (cafeoilputrescina) y glicoalcaloides como la solamargina y solanina) importante para el control de algunas enfermedades por hongos e insectos.<sup>14</sup>

Se destacan la solanidina, la solasodina es precursor de acetato de 16-dehidropregnenolona que es una molécula anti-fertilidad y antiinflamatorio, solasodieno, solaverinas, solasonina, solaverol, solafloridina, tomatidina, solaverbascina y b-solamarina, sólo por mencionar los alcaloides más importantes. Otro componente químico importante antes mencionado son las saponinas las cuales se sugiere presentan actividad contra artrópodos debido a que pueden afectar las cutículas cerosas de éstos.<sup>13</sup>

Los flavonoides son otro grupo de moléculas que han sido aisladas del género *Solanum*, aquí podemos hablar de los glicósidos de flavonol, de dihidroflavonoles y anthocianinas, las cuales aportan la coloración púrpura a flores y frutos.<sup>13</sup>

Se ha caracterizado por ser una especie vegetal de gran aporte en estudios de investigación por su riqueza de compuestos activos, ya que se destaca por producir en la mayoría de sus órganos alcaloides tóxicos, contiene aproximadamente 96 generos y 2,300 especies. Los géneros con mayor número de especies son: *Solanum* (1,000), *Lycianthes* (200), *Cestrum* (175), *Nicotiana* (95) y *Lycium* (75), la mayoría de estos generos tienen su centro de origen ubicado en America del Sur.<sup>14</sup>

### **2.2.2. Género *Solanum***

Considerado como el género más grande de angiospermas, posee el mayor número de especies de la familia solanaceae con alrededor de 1000 a 1500 especies entre hierbas y árboles, distribuidas en trópicos, sub trópicos y son conocidas como fuentes de sustancias estructuralmente muy relacionadas con las saponinas esteroidales llamados glicoalcaloides, la más alta concentración de especies se encuentra en los andes y en el Sur Este de Brasil ya que son especies que crecen en bosques húmedos tropicales. Dentro de su gran diversidad incluye especies importantes como tomate, tubérculos y plantas ornamentales que se caracterizan por poseer una gran actividad comercial por lo que se denominan económicamente importantes.<sup>14</sup>

### 2.2.2.1. *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga"

La *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", es una especie botánica de plantas herbáceas raramente árboles, pertenecientes a la familia de las Solanácea. "Ñuñunga", es un término quechua cuya traducción al castellano significa senos.<sup>12</sup>

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga"

DIVISIÓN	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	ASTERIDAE
ORDEN	SOLANALES
FAMILIA	SOLANACEAE
GÉNERO	<i>Solanum</i>
ESPECIE	<i>Solanum nitidum</i> R. & P.
N. V.	"ñuñunga"

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

#### a. Nombres comunes

Los nombres vernaculares más extendidos son variaciones de "ñuñu"= seno o pezón en quechua: "huaycha", "ñuñumaya", "añahuayo" (Puno) "cahuincho", "campucassa", "huiscacassa", "illauru", "nununya", "ñuñua", "ñuñuma", "ñuñumea", "ñuñunca", "ñuñunecai", "ñuñunquia", "ñuñuya", "tacachilla", "ñuñunga".<sup>12</sup>

#### b. Distribución y hábitat

El *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", crece de forma silvestre en la altura de las zonas altoandinas. En nuestra localidad lo podemos encontrar en la quebrada Marcapampa, carretera Los Libertadores, pasando la quebrada a 14 Km lineales al sur oeste de Vinchos a 3650 m. Es un componente común de las zonas de elevación en el Perú y Bolivia, también es cultivada en jardines domésticos por sus propiedades medicinales.<sup>12</sup>

#### c. Descripción botánica

El género *Solanum* incluye cerca de 1.400 especies descritas de amplia distribución, la mayoría de América tropical, pero algunas de América del sur.<sup>12</sup>

Arbusto y árboles pequeños, 1-4 m de altura. Tallos densamente pubescentes finas, gris, tricomas déntricas, hojas simples, 6-9 cm alternas, venas primarias destacados y paralelos, algo alado en el peciolo, márgenes enteros, ápice agudo, peciolo 1,5 cm de largo. Las inflorescencias terminales, aparece desbordamiento de los brotes, 3 - 7 cm de largo piramidal de ramificaciones 8-10 veces, de 10-20 flores simples peciolo 2 - 3 cm de largo, limbo oblongo lanceolado 6 - 10 x 2.5 -

3.5 cm margen entero y subrayando, ápice acuminado, penninervio, base simétrica y asimétrica. Inflorescencia cimosa dispuestas en racimos y panículas extras axilares opuestas a la hoja o terminales, las flores pueden alternar de color dando flores azul moradas, rosáceas; la cáliz puede estar pubescente campanulado 3.5 - 4 x 2.5 - 3mm pentalobulado, con los lóbulos iguales y agudos; la corola externamente pubescente aracnoidea internamente pelados 5 - lobulada, lóbulos oblongo elípticos desiguales; estambres 5, anteras conniventes, dehiscencia longitudinal ovario bicarpelar, bilocular, numerosos óvulos, estigma capitado. Fruto baya, globosa, 7-1 cm de diámetro, verdoso cuando están inmaduros son de color rojo brillante, con pericarpio delgado, el cáliz lobuloso a 4 mm de largo y algo acrescentes y leñosas en la fruta.<sup>12</sup>



**Figura 1.** *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga".<sup>46</sup>

#### **d. Usos tradicionales de la planta**

Según información etnobotánica, esta planta es utilizada para diversos usos en la medicina natural desde nuestros antepasados. Su uso más frecuente es en las zonas altoandinas, como cicatrizante, analgésico, antipirético, antiespasmódico.<sup>12</sup>

La infusión de 2-3 frutos de la ñuñunga al colocar en un jarro de agua hervida como bebida, se da a los niños que tienen dificultad para hablar.<sup>12</sup>

Como remedio para la bronconeumonía, se usa el siguiente preparado, el jugo obtenido de 20 frutos maduros de ñuñunga se mezcla en una botella con tres copas de alcohol o Singani, infusión de manzanilla (la cuarta parte de un jarro) y miel de abejas al gusto, pues los frutos de ñuñunga son muy amargos. Se toma durante tres días, una cucharada por la mañana, una a medio día y una tercera por la noche.<sup>12</sup>

El cocimiento de los frutos se usa en baños para bajar la fiebre y contra el raquitismo de los niños.<sup>12</sup>

Este cocimiento en fomentos calientes alivia los dolores del reumatismo y la gota.<sup>12</sup>

Las hojas soasadas de ñuñunga son un buen remedio para el tortícolis y otras dolencias que atribuye a un golpe de aire, las mismas deben ser aplicadas en los lugares afectados, en cambio las hojas molidas y aplicadas en los lugares afectados son analgésicas, se usan en caso de quemaduras, úlceras irritadas, forúnculos.<sup>12</sup>

Los frutos maduros se emplean para destetar a los niños, untando con su jugo los pezones de la madre (probablemente el origen del nombre común en quechua).<sup>12</sup>

El cocimiento de las hojas y frutos lavados se usa para curar las grietas o heridas leves producidas por accidentes domésticos.<sup>12</sup>

La planta es también utilizada como detergente.

Los baños realizados con el cocimiento de las hojas (30 g/L) aproximadamente, son usados como febrífugo, de preferencia por las noches.<sup>12</sup>

Puede usarse también la trituración de las hojas (30 gr aproximadamente), posteriormente amarrarlas en la planta de los pies, hasta que baje la temperatura o en caso de cefaleas.<sup>12</sup>

Psicotrópico, el conocimiento de toda la planta al beberlo produce mareos muy fuertes y en algunos casos alucinaciones.<sup>12</sup>

Ornamental, es apreciada por el color de sus flores y frutos.<sup>12</sup>

### **2.3. 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 combate 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>

Los radicales libres del oxígeno se clasifican de la forma siguiente:<sup>15</sup>

#### **2.3.1. Radicales libres inorgánicos o primarios.**

Se originan por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno, representan por tanto distintos estados en la reducción de éste y se caracterizan por tener una vida media muy corta; estos son el anión superóxido, el radical hidroxilo y el óxido nítrico.<sup>15, 16</sup>

#### **2.3.2. Radicales libres orgánicos o secundarios.**

Se pueden originar por la transferencia de un electrón de un radical primario a un átomo de una molécula orgánica o por la reacción de 2 radicales primarios entre sí, poseen una vida media un tanto más larga que los primarios; los principales átomos de las biomoléculas que actúan como radicales son: carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre.<sup>15,16</sup>

#### **2.3.3. Intermediarios estables relacionados con los radicales libres del oxígeno.**

Se incluye un grupo de especies químicas que, sin ser radicales libres, son generadoras de estas sustancias o resultan de la reducción o metabolismo de ellas, entre las que están el oxígeno singlete, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el peroxinitrito, los hidroperóxidos orgánicos, etc.<sup>15, 16</sup>

## **2.4. Fuentes de radicales libres**

### **2.4.1. Fuentes endógenas**

Las principales fuentes endógenas de especies oxidantes y radicales libres en el organismo son:

- La respiración aeróbica mitocondrial: las mitocondrias consumen  $O_2$  reduciéndolo en varias etapas a  $H_2O$  y produciendo como subproducto de esta respiración  $O_2$ ,  $H_2O_2$  y  $OH$ .
- Las células fagocíticas: los leucocitos neutrófilos, macrófagos y eosinófilos actúan mediante respuesta oxidativa al activarse por medio de proinflamatorios de agentes bacterianos, víricos o parasitarios. Así, son productores directos de grandes cantidades de  $O_2$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH$ ,  $NO$  y  $OCl$ .

### **2.4.2. Fuentes exógenas**

Las principales fuentes exógenas de especies oxidantes son:

- Las radiaciones ultravioletas, rayos X y gamma.
- El ozono, habitual y naturalmente presente en las capas más externas de la atmósfera terrestre. En ocasiones puede encontrarse en capas más bajas de forma natural o puede ser producido por fuentes antrópicas.
- Las sales de hierro y cobre que promueven la generación de radicales oxidantes a partir de peróxidos (reacción de Fenton).
- Los alimentos que ingerimos que potencialmente pueden contener peróxidos, aldehídos, ácidos grasos oxidados y metales de transición.

## **2.5. 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>

## **2.6. Antioxidantes**

Un antioxidante es una molécula suficientemente estable como para donar un electrón a un radical libre y neutralizarlo, reduciendo así su capacidad para dañar.

Estos antioxidantes retrasan o inhiben el daño celular, principalmente a través de su propiedad de eliminación de radicales libres.

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 pro-oxidativos. 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>

- **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>

- **Antioxidantes secundarios**

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

- **Antioxidantes terciarios**

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

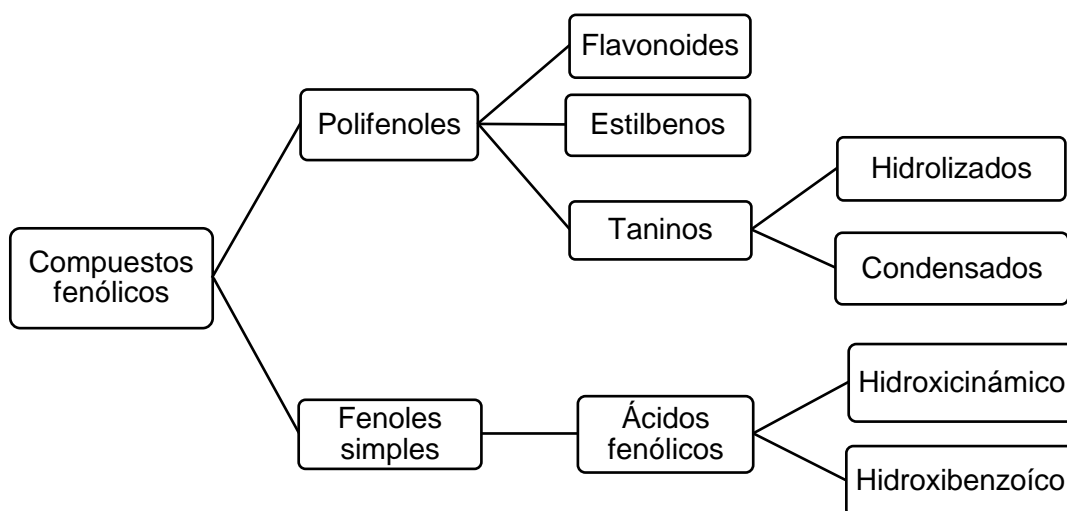
## **2.7. Compuestos fenólicos**

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. Su clasificación se observa en la Figura 1.<sup>17, 18</sup>



**Figura 2.** Clasificación de los compuestos fenólicos.

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.

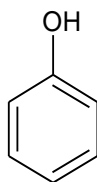
- Inducen la expresión de enzimas anticarcinogénicas o inhiben la inducción de enzimas promotoras de cáncer
- Tienen propiedades antiinflamatorias, antibacterianas y antifúngicas.

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>

### 2.7.1. Estructura química de los fenoles

El término fenoles comprende aproximadamente 8000 compuestos que aparecen en la naturaleza. Todos ellos poseen una estructura común: un anillo fenol un anillo aromático que lleva al menos un sustituyente hidroxilo.<sup>13</sup>

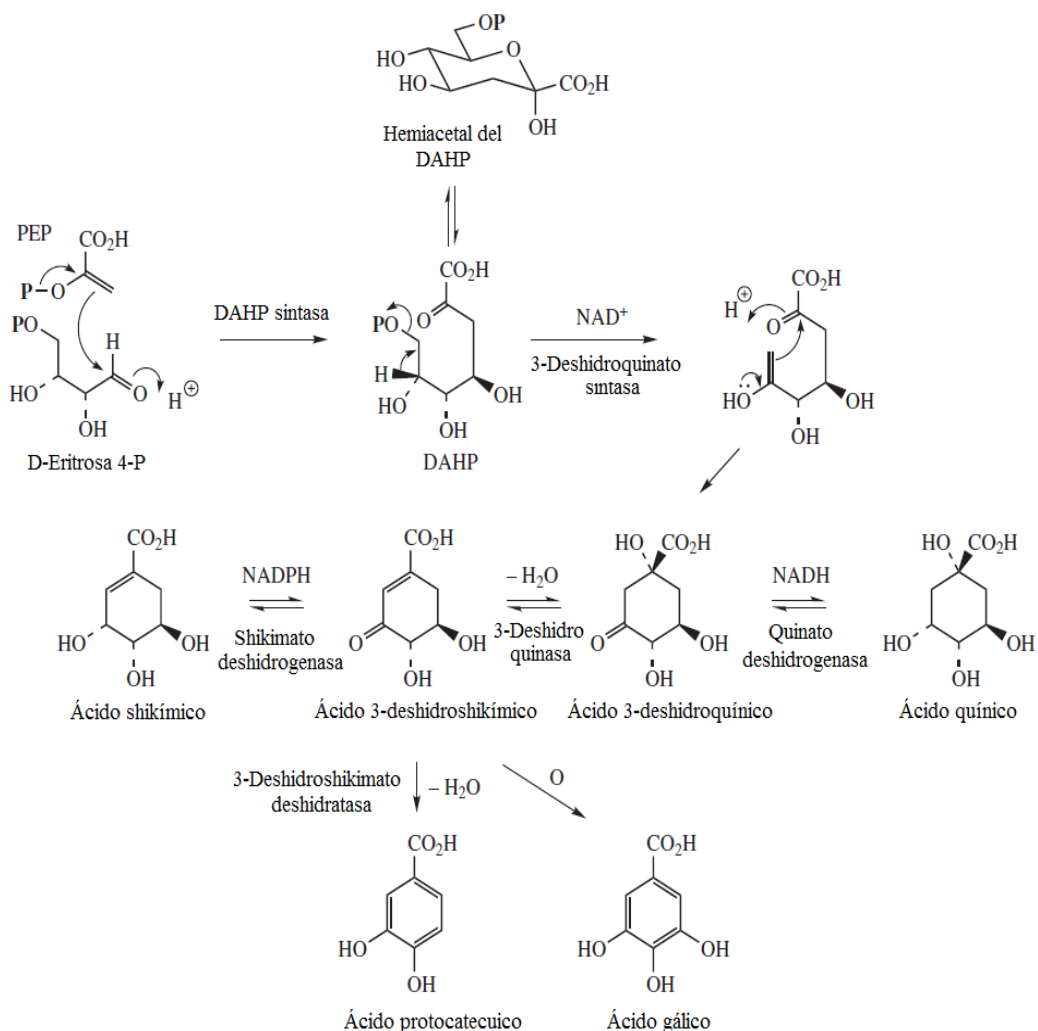


**Figura 3:** Estructura básica del fenol

### 2.7.2. Biosíntesis de los fenoles

La ruta del ácido shikímico es la más importante para originar compuestos fenólicos se inicia con el acoplamiento del fosfoenolpiruvato (PEP) y la D-eritrosa-4-fosfato, para obtener el ácido 3-deoxi-D- arabino-heptusolónico-7-fosfato (DAHP). Esta reacción tiene un mecanismo similar a una condensación de Claisen, aunque sucede catalizada enzimáticamente preferentemente. La eliminación de ácido fosfórico del DAHP se lleva a cabo por una oxidación que genera un enol, gracias a la presencia del NAD<sup>+</sup>, y se forma un intermediario que sufre un re arreglo para convertirse en el ácido 3-dehidroquinico, que en presencia del NADH y de la misma enzima que oxidó el DAHP, en este caso, reducirá el ácido 3-dehidroquinico a ácido quinico. El ácido shikímico es formado por deshidratación del ácido 3-dehidroquinico, formándose primero el ácido 3-

dehidroshikímico, que sufre una reducción en presencia de NADPH. Los ácidos protocatequínico y el gálico son ácidos fenólicos que se forman por deshidratación del ácido 3-dehidroshikímico, posterior enolización (protocatecuico) y una reducción con posterior tautomería cetoenólica (gálico), respectivamente. Por otra parte, el ácido shikímico en fosforilado en presencia de ATP, formando el ácido shikímico 3-fosfato, que se une a una molécula de fosfoenolpiruvato en medio ácido, reacción catalizada por la enzima 3-enolpiruvilshikimico-3-fosfato (EPSP) sintasa. El producto obtenido sufre una eliminación del grupo fosfato como ácido fosfórico, resultando así el ácido 3-enolpiruvilshikimico-3-fosfato (EPSP). El ácido corísmico se forma por una eliminación, probablemente concertada, del ácido fosfórico del EPSP.



**Figura 4.** Biosíntesis de los fenoles

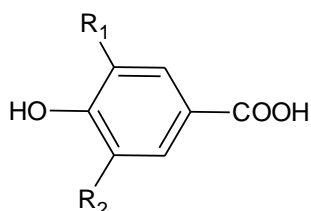
### 2.7.3. Ácidos fenólicos

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>

#### 2.7.3.1. Clasificación de los ácidos fenólicos

- **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 C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>, tienen un esqueleto formado por fenilpropanoides. Se encuentran libres o combinados en forma de hetérosidos o ésteres. Están presentes en forma de aldehídos, derivados metoxilados y algunos alcoholes.<sup>48,49</sup>



Ácido p-hidroxibenzoico

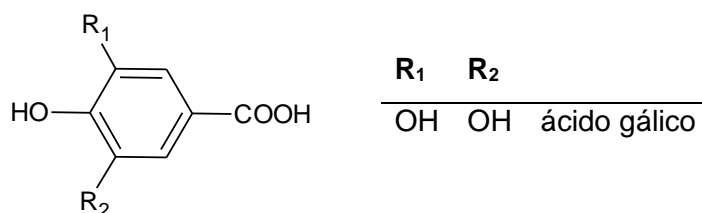
R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	
H	H	ácido p-hidroxibenzoico
OCH <sub>3</sub>	H	ácido vanílico
OH	OH	ácido gálico
OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	ácido siríngico

**Figura 5.** Estructura de los ácidos benzoicos

- **Ácido gálico**

El ácido gálico (AG), también conocido como ácido 3, 4 ,5-trihidroxibenzoico, es un ácido fenólico. se le atribuyen varios efectos biológicos, que van desde la actividad antiinflamatoria, antioxidante y antibiótica, hasta la protección cardiovascular y anticancerígena.

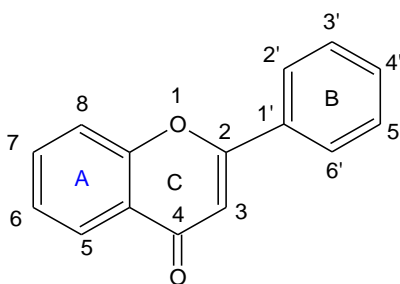
forma de hetérosidos o ésteres. Están presentes en forma de aldehídos, derivados metoxilados y algunos alcoholes.<sup>48,49</sup>



**Figura 6.** Estructura química del ácido gálico

#### 2.7.4. 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, antimicrobianos, antialérgicas, antitumorales.<sup>25,26</sup>

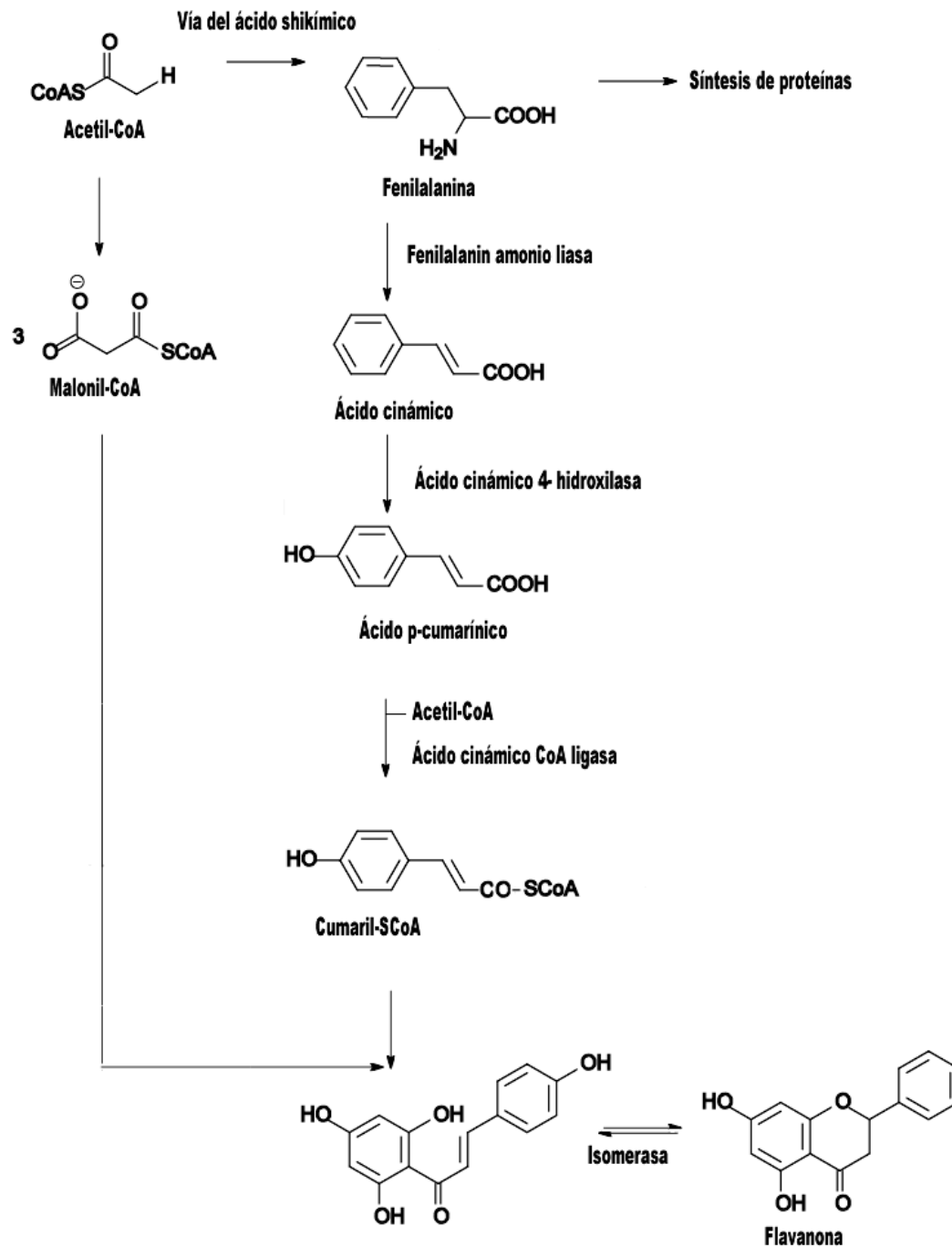


**Figura 7:** Núcleo básico de los flavonoides.

##### 2.7.4.1. Biosíntesis de flavonoides

La vía del ácido shikímico se inicia en los plastos por condensación de dos productos fotosintéticos, la eritrosa 4-P con el fosfoenolpiruvato (PEP), y por diversas modificaciones se obtiene el ácido shikímico, del cual derivan directamente algunos fenoles en los vegetales. Pero la vía del ácido shikímico

normalmente prosigue, y la incorporación de una segunda molécula de PEP conduce a la formación de fenilalanina.



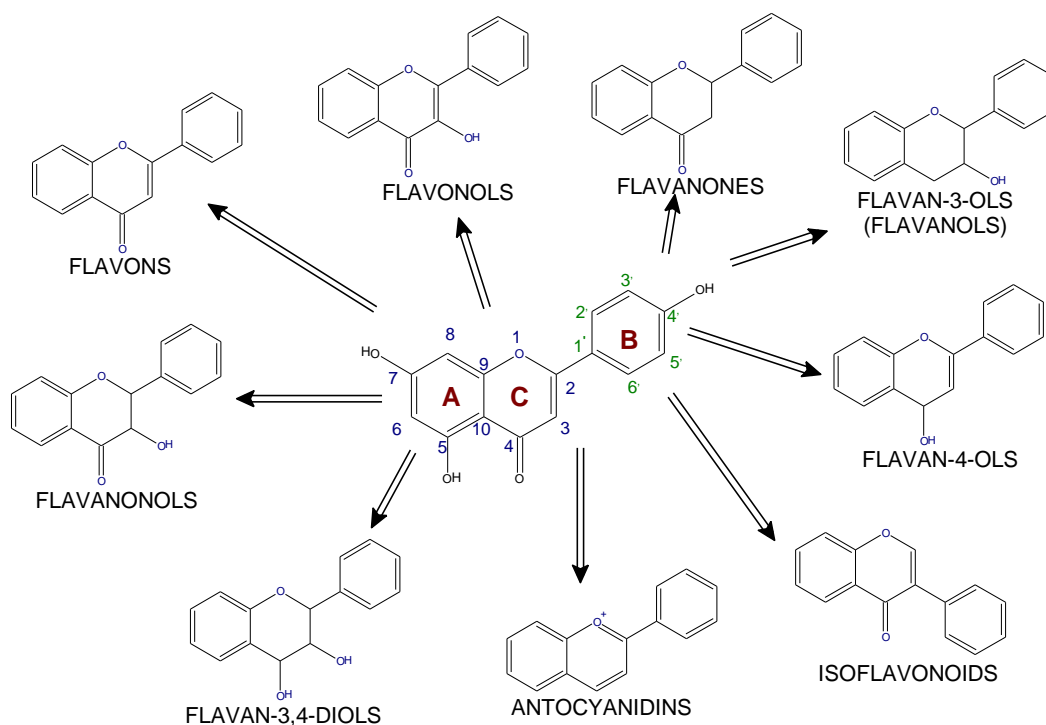
**Figura 8.** Biosíntesis de flavonoides

La vía biosintética de los flavonoides comienza cuando la fenilalanina, por acción de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL) se transforma en ácido cinámico, que luego es transformado en ácido p-cumarínico por incorporación de un grupo

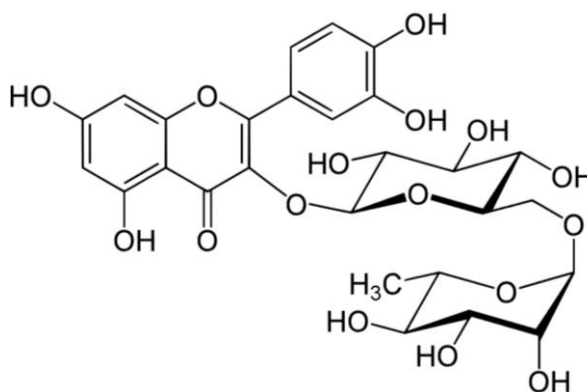
hidroxilo a nivel de anillo aromático, y la acción de una CoA ligasa lo transforma en cumaril-SCoA, el precursor de la mayoría de los fenoles de origen vegetal, entre los que se encuentran los flavonoides.

#### 2.7.4.2. Clasificación de flavonoides

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



**Figura 9:** Estructura química de los flavonoides.



**Figura 10:** Estructura química de la rutina.

## 2.8. Actividad antioxidante

El número y la posición de grupos hidroxilo, la glicosilación y otras sustituciones determinan la actividad de secuestro de radicales libres por los compuestos fenólicos. La diferencia que existen entre la actividad de secuestro de radicales libres están atribuidas a las diferencias estructurales de hidroxilación, glicosilación y metoxilación.<sup>47</sup>

## 2.9. 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) y por transferencia de átomos de hidrógeno (HAT).

ENSAYO	CATEGORÍA
ácido 2,2'azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS <sup>•+</sup> )	Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET)
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)	
Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC)	Ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)
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)	

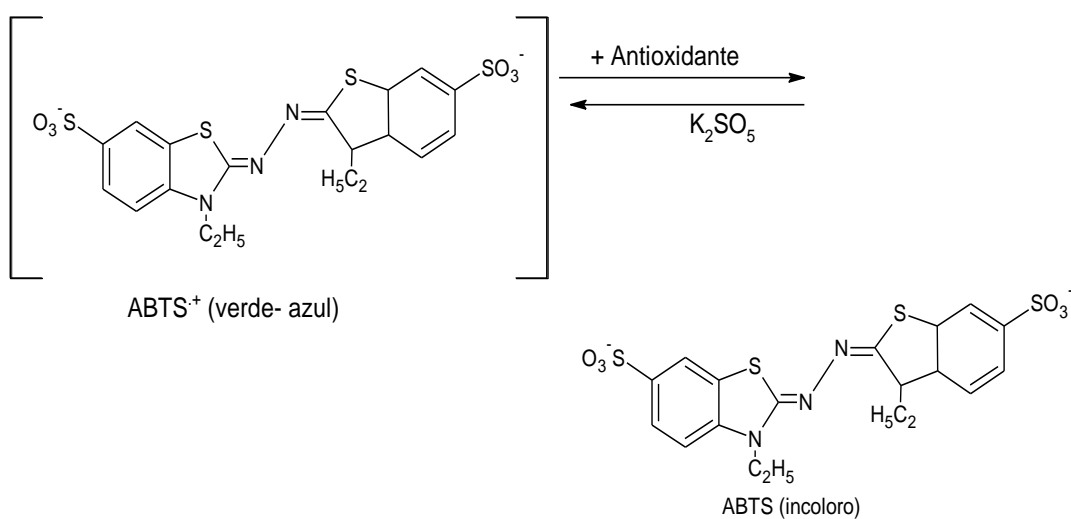
**Tabla 2.** Clasificación de los modelos de ensayo *in vitro* según su modo de reacción ET y HAT.<sup>21</sup>





ABTS•+. Los resultados de los compuestos analizados se expresan como equivalentes de trolox.<sup>23</sup>

El método permite expresar los resultados de acuerdo a la capacidad del antioxidante para donar un hidrogeno y estabilizar al radical ABTS. La decoloración que la solución de ABTS experimenta en la reacción, se compara con la decoloración hecha por un antioxidante patrón derivado de la vitamina e conocido como trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-acido carboxílico), mediante una curva de calibración. Por esta razón el resultado se expresa como capacidad antioxidante en equivalentes trolox o TEAC (del inglés: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).<sup>22</sup>



**Figura 12.** Mecanismo de reacción para el ensayo ABTS.<sup>24</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. En el marco del Proyecto FOCAM: Contribución a la mejora de la calidad de recursos naturales terapéuticos, productos y medicamentos herbarios con potencialidad económica del Distrito de Vinchos, Ayacucho 2015

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

##### **3.2.1. Población**

Está constituida por las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", que crecen en la comunidad de Huaraca, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

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

Está constituida por 1kg de hojas frescas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", que fueron recolectadas en la comunidad de Huaraca a 3800 m.s.m. en horas de la mañana en el mes de marzo, realizando muestreo por conveniencia

##### **3.2.3. Unidad de análisis**

5g de extracto seco de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga"

##### **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 *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga" 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>26</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 polvillo.

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.

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

La identificación de los diferentes compuestos químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", fueron realizadas siguiendo la metodología de coloración y precipitación.<sup>37</sup>

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

La determinación de contenido de fenoles totales se realizó mediante el método de espectrofotometría de Folin-Ciocalteu, para lo cual se usó ácido gálico como el compuesto fenólico de referencia.<sup>28</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>29</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 (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) al 7,5%. Se mezcló en un tubo de ensayo y se dejó reaccionar 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 fue expresado en miligramos de equivalentes de ácido gálico (EAG) 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 “a” es la intersección y “b” pendiente, para calcular el contenido de fenoles totales se debe reemplazar en el valor correspondiente en el eje “Y” (absorbancia) y en el eje “X” (concentración µg/mL), posteriormente fueron expresados como mg EAG/g de extracto seco.

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

El contenido de flavonoides totales en los extractos secos de *solanum nitidum* “ñuñunga” fue determinado por el método de Gonzales<sup>8</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 seco de *solanum nitidum*, se tomaron alícuota de 2mL y se transferirán a un volumétrico de 5mL, se adicionará a continuación 0,5mL del reactivo de cloruro de aluminio ( $AlCl_3$ ) 2%. Se completará con alcohol de 50° hasta volumen. Después de treinta minutos de incubación a temperatura ambiente, la absorbancia será medida a 415 nm. El contenido de flavonoides totales se calculará como equivalentes de rutina (mg de rutina/g MS) a partir de la curva de calibración de este compuesto.<sup>30</sup>

La curva de calibración se trabajará en un intervalo de concentración de 8-32 µg/mL. Las evaluaciones de los extractos del atomizado de “ñuñunga” se realizarán 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 “a” es la intersección y “b” pendiente para calcular el contenido de flavonoides totales, se debe reemplazar en el valor

correspondiente en el eje "Y" (absorbancia) y en el eje "X" (concentración ug/mL),, posteriormente fueron expresados como mg ERu/g de extracto seco.

### 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>4</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 harán en UV-Vis a una longitud de onda de 515 nm, se usará el trolox como control positivo.

Los resultados se expresarán como IC50, % de actividad antirradicalaria, o equivalentes a trolox.

##### a. Procedimiento

Se procedió a preparar 50 mL de la solución madre DPPH en etanol 96° a una concentración de 40 µg/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>4</sup>

El extracto seco de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga" y el control positivo (trolox) en etanol 96°, serán diluidos a concentraciones de 250, 200, 150, 100, 50 y 25 µg/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 realizarán a 515 nm a 30 minutos. Se utilizará una mezcla de etanol (2,7 mL) y 0,3 del extracto como blanco.<sup>4</sup>

##### b. Cálculos

- Se calculó el porcentaje de actividad antioxidante (%AA), según la siguiente ecuación:

$$\%AA = \frac{\{[Abs_c - (Abs_m - Abs_b)] \times 100\}}{Abs_c} \quad \dots \text{Ecuación (1)}$$

##### Donde:

A<sub>c</sub>: Absorbancia inicial de la solución etanólica de DPPH

A<sub>m</sub>: Absorbancia de la reacción del DPPH con la muestra.

A<sub>b</sub>: Absorbancia del blanco

- Se calculó la concentración media inhibitoria (CI<sub>50</sub>) de la actividad antioxidante, según la ecuación exponencial del porcentaje de DPPH remanente en función

de la concentración de Trolox y/o extractos secos, utilizando el software OriginPro.

### 3.3.6.2 Método del Radical 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS)

Preparación de la solución madre de ABTS: Se preparó una solución madre de ABTS (7Mm), para ello se pesó exactamente 0,09601 g de ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, 98%) y se disolvió en 25 ml de agua destilada.<sup>31, 32, 33</sup>

Preparación de la solución de persulfato de potasio: Se preparó una solución de persulfato de potasio (2,45Mm), para ello se pesó 0,0165 g de persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ ) y se disolvió en 25mL de agua destilada.<sup>31, 32, 33</sup>

#### a. Preparación del radical ABTS•+

En un frasco ámbar, se colocó 5mL de la solución madre ABTS (7mM) y 5 mL de la solución de Persulfato de Potasio  $K_2S_2O_8$  (2,45mM), se homogenizó y se cubrió con papel aluminio. La solución se incubó de 12 a 16 horas a temperatura ambiente ( $\pm 25^\circ C$ ) antes de su utilización.

Una vez formado el radical ABTS•+ se diluyó con etanol 96° hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 ( $\pm 0,02$ ) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción).<sup>31, 32, 34, 36</sup>

#### b. Procedimiento

Se colocó 20 ul de las soluciones de los extractos y estándares a concentraciones de 50 a 250ug/mL en tubos de vidrio y se hizo reaccionar con 980ul del radical ABTS•+.

Se midió la densidad óptica de la mezcla de reacción al minuto 6 a 734 nm, los ensayos se realizarán por triplicado.

#### c. Cálculos

- Se calculó el porcentaje de actividad antioxidante (%AA), según la siguiente ecuación:

$$\%AA = \frac{\{[Abs_c - (Abs_m - Abs_b)] \times 100\}}{Abs_c} \quad \dots \text{Ecuación (1)}$$

#### Donde:

$A_c$ : Absorbancia inicial de la solución etanólica de DPPH

$A_m$ : Absorbancia de la reacción del DPPH con la muestra.

$A_b$ : Absorbancia del blanco

- Se calculó la concentración media inhibitoria ( $CI_{50}$ ) de la actividad antioxidante, según la ecuación lineal del porcentaje de actividad antioxidante en función de la concentración de Trolox y/o extractos secos.

### **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  $CI_{50}$  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%.



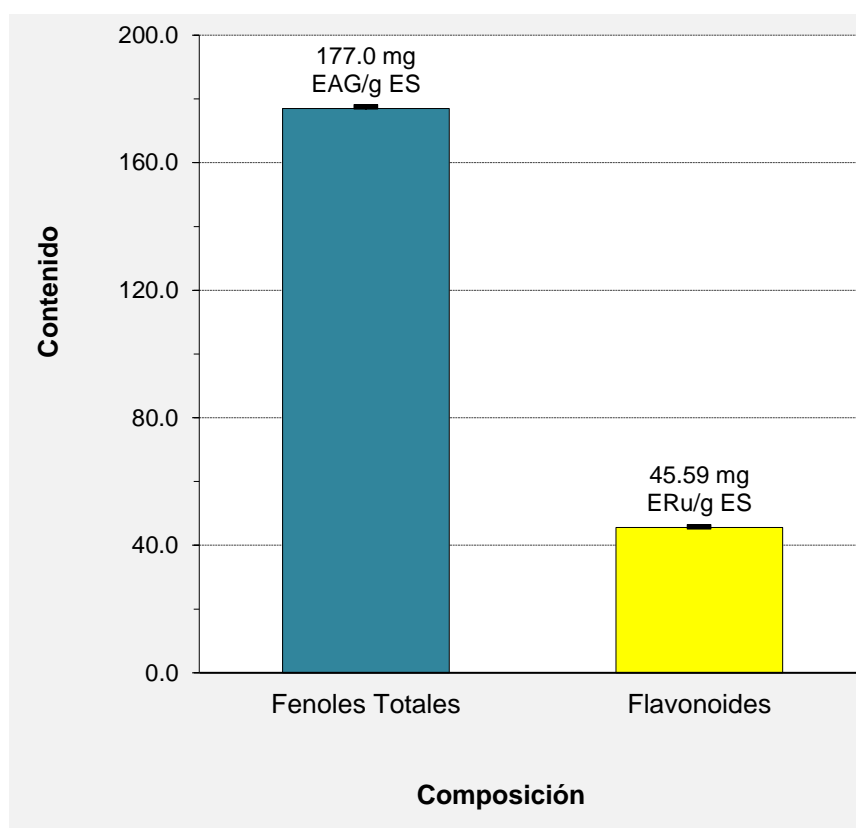
#### **IV. RESULTADOS**



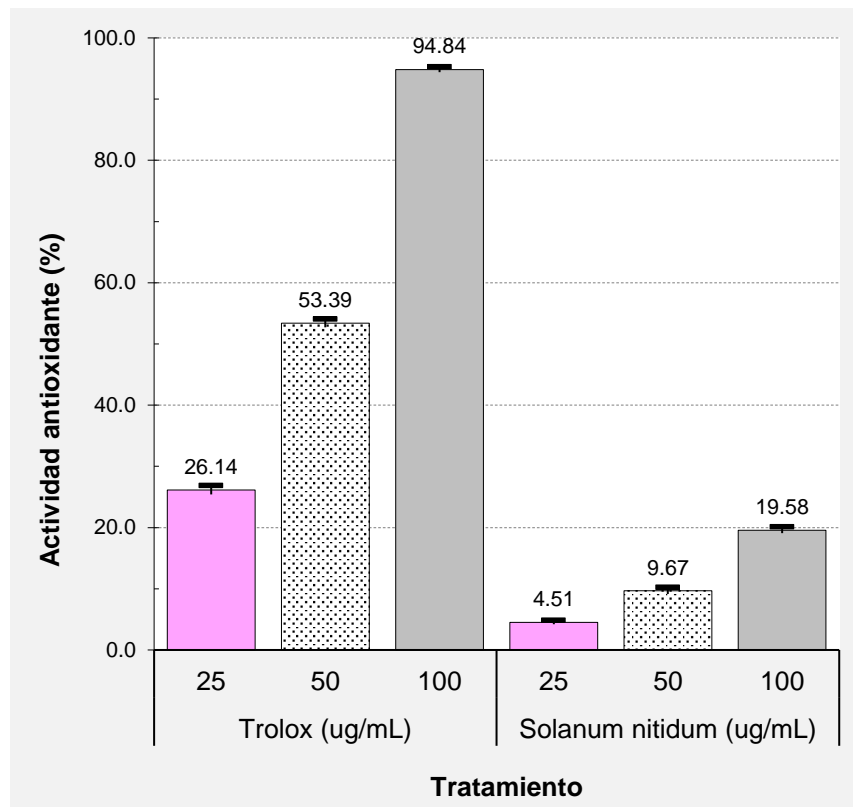
**Tabla 3.** Identificación de metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga”, Ayacucho 2018.

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

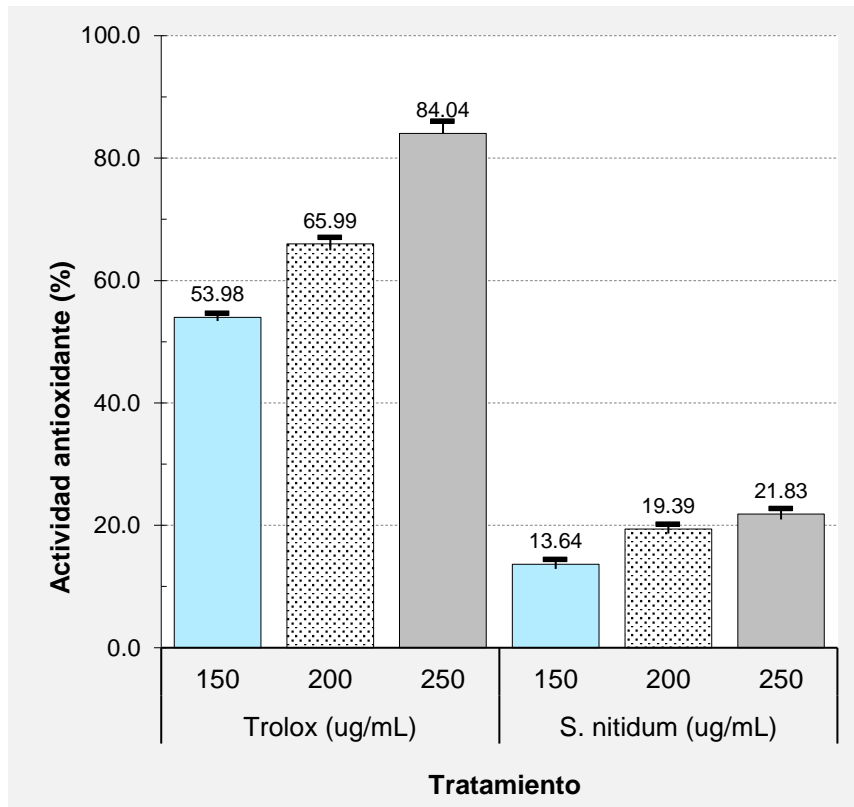
**LEYENDA:** Escasa/leve (+); Regular (++); Abundante/intenso (+++)



**Figura 13.** Contenido de fenoles totales y flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga”, Ayacucho 2018.



**Figura 14.** Porcentaje de actividad antioxidante mediante el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de *solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga”, Ayacucho 2018.



**Figura 15.** Porcentaje de actividad antioxidante mediante el método ABTS del extracto hidroalcohólico de las hojas de *solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga”, Ayacucho 2018.

**Tabla 4.** Concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga”, Ayacucho 2018.

<b>Muestra</b>	<b>DPPH CI<sub>50</sub> (µg/mL)</b>	<b>ABTS CI<sub>50</sub> (µg/mL)</b>
Solanum <i>nitidum</i> R. & P.	228,8 ± 0,36*	544,8 ± 0,57*
Trolox	37,0 ± 0,43*	148,1 ± 0,98*





## V. DISCUSIÓN

Rivas et al.<sup>25</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.

Según Pérez<sup>12</sup>, y Cuadros<sup>38</sup>, el *Solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga” es una planta utilizada en la medicina tradicional por sectores alto andinos de nuestro país, entre ellos la comunidad de huaraca, anexo de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, que mediante una información etnobotánica las hojas son utilizadas como antipirético, antiséptico, analgésico, antiespasmódico, cicatrizante.

La tabla 3, muestra los resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga” 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 naranja intensa de la fase amílica para flavonoides, ya que diversas investigaciones mencionan que la actividad antioxidante se debe a estos metabolitos secundarios.

Los resultados descritos párrafos anteriores, se relacionan con los estudios realizado por Cuadros<sup>38</sup>, en el tamizaje fitoquímico realizado al extracto atomizado

de las hojas de *solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga” demostró la presencia de catequinas, alcaloides, taninos, flavonoides, saponinas, aminoácidos libres y quinonas. Por su lado Pérez<sup>12</sup>, en otra investigación con el extracto atomizado de las hojas de *solanum nitidum*. Reporta la presencia de flavonoides, taninos, quinonas, saponinas, triterpenos, esteroides y catequinas.

Otros estudios realizados a la especie *Solanum*. Aragadvay<sup>39</sup>, en el tamizaje fitoquímico realizado al extracto seco de *Solanum nigrum* “hierbamora” reportó la presencia de alcaloides, cumarinas, taninos, quinonas, triterpenos y/o esteroides saponinas, azúcares reductores y principios amargos, éstos resultados fueron corroborados por Guzmán<sup>40</sup>, en su trabajo de investigación donde realizó el tamizaje fitoquímico al extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “tomatillo” donde reportó la presencia de lactonas, cumarinas, triterpenos y/o esteroides, saponinas, fenoles, taninos, quinonas, flavonoides, cardenólidos, catequinas, alcaloides y azúcares reductores. por su lado Lope Y.<sup>41</sup> realizó el tamizaje fitoquímico al extracto hidroalcohólico de *Solanum radicans* L. “ñuqku” encontrando la presencia de alcaloides, azúcares reductores, flavonoides, fenoles y/o taninos, triterpenos y/o esteroides.

Pérez et al.<sup>27</sup>, mencionan que una coloración azul indica la presencia de taninos hidrolizables y una coloración verde, de taninos condensados.

Miranda et al.<sup>37</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 *solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga”, 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<sup>43</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 13, 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 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 7) obteniendo  $177,0 \pm 0,42$  mg GAE/g de extracto seco y para la cuantificación de flavonoides totales se elaboró la curva de calibración de rutina, con un coeficiente de correlación de 0,9986 (anexo 9) obteniendo  $45,6 \pm 0,13$  mg 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.

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>45</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>44</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>45</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>45</sup>

Cuando se realizó el método de Tricloruro de Aluminio en las muestras, estas presentaron un color amarillo, según Amaya y col.<sup>42</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<sup>28</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.

Aparcana et al.<sup>11</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 et al.<sup>44</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 *solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga” a través de dos métodos colorimétricos *in-vitro* con las especies radicalarias sintéticas DPPH y ABTS, puesto que estos son los más utilizados en los laboratorios del mundo debido a que indican de manera general, la capacidad antioxidante de las sustancias para donar hidrógenos o captar electrones.

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>5</sup>

Zaquinaula<sup>5</sup>, menciona que el método ABTS mide la capacidad captadora de radicales libres a través de la decoloración del radical ABTS. Este método es capaz de determinar propiedades antioxidantes tanto hidrofílicos y lipofílicos. En este método, el color azul/verde del radical ABTS<sup>+</sup>, generado por la oxidación de ABTS con persulfato de potasio, se reduce en presencia de antioxidantes, y el grado de decoloración se determina en un punto de tiempo fijo, por tanto, entre mayor es la capacidad antioxidante del polifenol, mayor es la decoloración generado sobre el radical ABTS.

Kuskoski et al.<sup>36</sup>, mencionan sobre los métodos químicos utilizados para determinar la capacidad antioxidante (captación de radicales libres), el radical ABTS es uno de los más rápidos, originando resultados reproducibles y

coherentes. Además, el ABTS presenta importantes ventajas; muestra varios máximos de absorción y una buena solubilidad, permitiendo el ensayo de compuestos tanto de naturaleza lipofílica como hidrofílica.

Para determinar la actividad antioxidante mediante el método DPPH, se trabajó con la curva de calibración del radical (anexo 11), se elaboró de acuerdo a la metodología descrita por Sousa et al.<sup>4</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 10. Por otro lado, para la determinación de la actividad antioxidante mediante el método ABTS, se trabajó de acuerdo al anexo 14.

Para contrastar el porcentaje de actividad antioxidante mediante el método DPPH Y ABTS, se utilizó como estándar el trolox. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga” 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 10 y anexo14)

Los resultados obtenidos se muestran en la figura 14 y figura 15, las concentraciones de 250 µg/mL, presentaron el mayor porcentaje de actividad antioxidante, según el método DPPH  $96,13 \pm 0,21$  para el trolox y  $49,23 \pm 0,42\%$  para *solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga”, según el método ABTS  $84,04 \pm 1,93$  para el trolox y  $21,83 \pm 8,87\%$  para *solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga” respectivamente.

Los taninos o polifenoles poliméricos tienen mayor actividad antioxidante que los fenoles monoméricos simples.<sup>45</sup>

En la tabla 4, se muestran los resultados de la concentración inhibitoria IC<sub>50</sub>, según el método DPPH y ABTS para *solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga”. Donde a menor concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>) mayor capacidad antioxidante, los resultados obtenidos fueron 228,8 µg/mL y 544,8 µg/mL, según el método DPPH y ABTS respectivamente. Además, son estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ), tal como se observa en el anexo 12 y anexo 15.

Aparcana et al.<sup>11</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 CI<sub>50</sub> 1,86 mg/mL por el método DPPH y como concentración inhibitoria CI<sub>50</sub> 1,29 mg/mL por el método ABTS.

Juli et al.<sup>44</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  $CI_{50}$  27,52  $\mu\text{g/mL}$  para el clon 304239 y una concentración inhibitoria  $CI_{50}$  76,15  $\mu\text{g/mL}$  para el clon 302851.

Se observaron diferencias entre los dos ensayos de captura de radicales libres (DPPH $\cdot$  y ABTS $\cdot+$ ) empleados. Ambos ensayos miden la capacidad de los antioxidantes presentes en una muestra para capturar el radical libre, sin embargo, sus condiciones de reacción y cinética son diferentes. Además, otra importante diferencia entre ambos ensayos es que el ABTS $\cdot+$  puede medir actividad antioxidante en medio orgánico u acuoso teniendo en cuenta la naturaleza hidrofílica o lipofílica de los compuestos en la muestra. Contrario a esto, el ensayo con DPPH $\cdot$  solo se puede realizar en un medio orgánico, lo cual constituye una limitante al momento de interpretación de la capacidad antioxidante de los compuestos hidrofílicos presentes en una muestra, situación que justifica las diferencias evidenciadas entre ambas determinaciones colorimétricas.

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 ( $\alpha$ -tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico),  $\beta$ -caroteno (pro-vitamina A), compuestos fenólicos y flavonoides, se han relacionado a efectos positivos en la salud debido a su efecto antioxidante.<sup>3</sup>

## VI. CONCLUSIONES

1. Los metabolitos identificados en el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga" fueron: alcaloides, flavonoides, fenoles y/o taninos, esteroides, quinonas, cumarinas, saponinas y azúcares reductores.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", contiene compuestos fenólicos totales en promedio de  $177\text{mg} \pm 0,42 \text{ mg GAE/g}$  de extracto seco.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", contiene flavonoides totales en promedio de  $45,6\text{mg} \pm 0,13 \text{ mg RuE/g}$  de extracto seco.
4. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", presenta actividad antioxidante *in vitro* frente al radical DPPH y ABTS con una concentración inhibitoria de  $\text{Cl}_{50}$  de  $228,8 \pm 0,36 \text{ } \mu\text{g/mL}$  y  $544,8 \pm 0,57 \text{ } \mu\text{g/mL}$  respectivamente, éstas difieren estadísticamente del Trolox (DPPH  $P=2,25 \times 10^{-25}$  y ABTS  $P= 6,15 \times 10^{-21}$ ).





## VII. RECOMENDACIONES

- Realizar el aislamiento y cuantificación de alcaloides, ya que en la marcha fitoquímica que se realizó se pudo observar que el *solanum nitidum R. & P.* “ñuñunga”, presenta abundantes alcaloides.
- Realizar el aislamiento de los metabolitos secundarios que se encuentran presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *solanum nitidum R. & P.* “ñuñunga”, 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 *solanum nitidum R. & P.* “ñuñunga”.



## 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. Islas M, Castañeda A, Álvarez A, Valenzuela R, Romero L, Torres M. Estudio preliminar de la actividad antioxidante de res especies del genero *Ganoderma* (polyporaceae) nativas del estado de Hidalgo, Mexico. *Scientia Fungorum*. 2017; 46:37– 45.
3. Oliveira Bardales G. capacidad antioxidante de *Averrhoa carambola* L. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres [Internet] [tesis]. [lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014 [citado 1 de marzo de 2018]. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3943/Oliveira\\_bg.pdf;jsessionid=0BFDC7C84DBFFDCB1EBEBD73A0F3A48D?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3943/Oliveira_bg.pdf;jsessionid=0BFDC7C84DBFFDCB1EBEBD73A0F3A48D?sequence=1)
4. 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>
5. Zaquinaula Ñahuazo FE. Determinación de la capacidad antioxidante en alimentos tradicionales [Internet] [Tesis]. [Loja, Ecuador]: Universidad Técnica Particular de Loja; 2016 [citado 8 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/16302/1/Zaquinaula%20I%C3%B1ahuazo%20Fabi%C3%A1n%20Efra%C3%ADn.pdf>
6. Alarcón Zavaleta TM. Actividad antioxidante y biológica de extractos de maíz azul (*Zea mays* L.) [Internet] [tesis]. [Veracruz, México]: Universidad Veracruzana; 2011 [citado 7 de marzo de 2018]. Disponible en: <https://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/46795/2/AlarconZavaletaTaniaMargarita1d2.pdf>
7. Vintimilla Gualan, MG. Determinacion de la actividad antioxidante de las fracciones lipofílicas e hidrofílicas de los subproductos agroindustriales de mango [Internet] [tesis]. [Loja, Ecuador]: universidad técnica particular de loja; 2013 [citado 10 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/5752/1/tesis%20terminadaa.pdf>
8. Gonzales Gonzales L. Composición fenólica y actividad antioxidante de las hojas de *Mosiera crenulata* [Internet] [tesis]. [Cuba]: Universidad Central «Marta Abreu» de las Villas; 2016 [citado 8 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/6372/Lorena%20Gonz%C3%A1lez%20Gonz%C3%A1lez.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Valenzuela Bustamante PD. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de diferentes genotipos de *ugni molinae turcz*. [Internet] [tesis]. [Santiago, Chile]: Universidad de Chile; 2015 [citado 6 de marzo de 2018]. Disponible en:

- <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/134044/Evaluacion-de-la-actividad-antioxidante-y-determinacion-del-contenido-de-fenoles-totales-y-flavonoides.pdf;sequence=1>
10. Cárdenas Camacho COR. Actividad antimicrobiana y antioxidante del extracto etanólico de *Prosopis pallida* "algarrobo" [Internet] [tesis]. [Lima, Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017 [citado 10 de marzo de 2018]. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/5857/Cardenas\\_cc.pdf;jsessionid=89CFDFD5AC3300CA721BB4327392E805?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/5857/Cardenas_cc.pdf;jsessionid=89CFDFD5AC3300CA721BB4327392E805?sequence=1)
  11. Aparcana Ataurima IM. Villarreal Inca Leydi Steffani. Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos del fruto de *Physalis peruviana* «aguaymanto» de diferentes lugares geográficos del Perú. [Internet] [tesis]. [Lima, Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014 [citado 15 de marzo de 2018]. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3791/Aparcana\\_ai.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3791/Aparcana_ai.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  12. Pérez Solier IF. Actividad cicatrizante del cremigel elaborado a base del extracto atomizado de las hojas de *Solanum nitidum* R. &P." ñuñunga", Ayacucho-2014 [Internet] [tesis]. [Ayacucho- Perú]: universidad nacional de san cristobal de huamanga; 2015 [citado 5 de enero de 2018]. Disponible en: [http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/1169/Tesis%20Far433\\_Per.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/1169/Tesis%20Far433_Per.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  13. Zhañay Andrade MA. Relación entre la Actividad Antioxidante y Concentración de Compuestos Fenólicos Contenidos en el Fruto del Pungal (*Solanum crinitipes*) [Internet] [tesis]. [Riobamba - Ecuador]: escuela superior politécnica de Chimborazo; 2012. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2582/1/56T00350.pdf>
  14. Matailo García DX. Aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de la especie vegetal *Solanum oblongifolium* Dunal, en la provincia de Loja. [Internet] [tesis]. [Loja, Ecuador]: universidad tecnica particular de loja; 2017 [citado 25 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/17291/4/Matailo%20Garc%C3%ADa%2c%20Dario%20Xavier%20-%20TESIS.pdf>
  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/andreaelisagarciamirez.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.esPOCH.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*" quinua" 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/lbeth\\_Tesis\\_bachiller\\_2015.pdf?sequence=1](http://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/232/lbeth_Tesis_bachiller_2015.pdf?sequence=1)
  20. Muedas Taipe 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 phyllicoides* (Kunth) Wedd [Internet] [tesis]. [Bogota, 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%20phillycide.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. Usquiano Lecoña IV. Evaluación de la capacidad antioxidante y determinación de compuestos fenólicos a partir de extractos de frutas de los valles de la Paz [Internet] [tesis]. [La Paz, Bolivia]: Universidad Mayor de San Andres; 2013 [citado 20 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/4148/T-1841.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  24. Huaccho Huamán CV. capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, carotenoides y antocianinas de 84 cultivares de mashua (*tropaeolum tuberosum ruiz y pavón*) [internet] [tesis]. [lima, Perú]: universidad nacional agraria la molina; 2016 [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2844/Q04-H833-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  25. Rivas-Morales C, Oranday-Cárdenas MA, Verde-Star MJ. Investigación en plantas de importancia médica [Internet]. 1.ª ed. México: OmniaScience;

- Universidad Autónoma de Nuevo León, México, 2016 [citado 22 de febrero de 2018]. 452 p. Disponible en: <http://www.omniascience.com/monographs/index.php/monograficos/issue/view/34>
26. Organización Mundial de la Salud. Buenas Prácticas Agrícolas y de Recolección de Plantas Medicinales. Directrices de un grupo científico de la OMS. Ginebra, 2003.
  27. Pérez F, Aponte GL, Avalos FR, Nuñez LV. Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. *Pueblo cont.* 2011; 22(2): 421-426. Disponible en: <file:///C:/Users/FARMACIA/AppData/Local/Temp/435-1596-1-PB-1.pdf>
  28. 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>
  29. Gómez Salguero D. Determinación de la capacidad antioxidante del aceite de híbrido de palma en diferentes estados de maduración^ [Internet] [tesis]. [Bogota, 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>
  30. 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)
  31. 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.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4007/1/56T00530%20UDCTFC.pdf>
  32. Agudo Medina L. Técnicas para la determinación de compuestos antioxidantes en alimentos. *Rev Electrónica Autodidacta.* 2010; pág. 27 - 34. Disponible en: [http://www.academia.edu/13924487/T%C3%A9cnicas\\_para\\_la\\_determinaci%C3%B3n\\_de\\_compuestos\\_antioxidante\\_en\\_alimentos.\\_Laura\\_Agudo\\_Medina\\_ISSN\\_1989-9041\\_Autodidacta](http://www.academia.edu/13924487/T%C3%A9cnicas_para_la_determinaci%C3%B3n_de_compuestos_antioxidante_en_alimentos._Laura_Agudo_Medina_ISSN_1989-9041_Autodidacta)
  33. Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso Márquez CJ, Otero CM, Rojano B, Osorio JA. Actividad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* s.) en poscosecha. *Temas Agrar.* 2014;19(2):173 - 184. Disponible en: <http://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/temasagrarios/article/viewFile/732/848>

34. Guayasamin Pérez LE. Aldana Pérez CD. evaluación de la actividad antioxidante de los extractos (alcohólico y acuoso) de las hojas de ficus citrifolia y caracterización química de los polifenoles [Internet] [tesis]. [Quito]: Universidad Politécnica Salesiana; 2014. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6011/1/UPS-QT04207.pdf>
35. Ludeña Rojas MM. Evaluación de antioxidantes provenientes de subproductos en productos procesados (bebidas) [Internet] [tesis]. [Loja, Ecuador]: universidad técnica particular de loja; 2015 [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/13074/1/LUDENA%20ROJAS%20%20MICHELLE%20MARIA.pdf>
36. Kuskoski M, Asuero A, Troncoso A, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Cienc Tecnol. Aliment. 2005;25(4):726–732. disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>
37. 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.
38. Cuadros J. Efecto cicatrizante del extracto atomizado de las hojas de *Solanum nitidum* R & P “ñuñunga” en ratas wistar. [tesis]. Ayacucho: UNSCH; 2013.
39. Aragadvay Yungán S. Elaboración y control de calidad de tintura y gel cicatrizante y antiinflamatorio a base de chilca (*Baccharis Jatifolia*) y hierba mora (*Solanum nigrum*). [tesis]. Ecuador: Escuela superior politécnica de Chimborazo. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Quito- 2009. Disponible en: <http://dspace.esepoch.edu.ec/bitstream/123456789/216/1/56T00190.pdf>.
40. Guzmán W. Actividad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “tomatillo” frente a cepas de bacterias Gram negativa. [tesis]. Ayacucho: UNSCH; 2014.
41. Lope Y. Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum radicans* L. “ñuqku” en íleon aislado de cobayos. [tesis]. Ayacucho: UNSCH; 2015.
42. Amaya L, Portillo C. Determinación de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el ingenio chaparrastique por el método de espectrofotometría ultravioleta visible. [internet] [tesis]. [ San Salvador, El Salvador]. Universidad de El Salvador; 2013 [citado 16 de octubre del 2018].
43. Toapanta Caguana S. Cambios en la capacidad antioxidante durante el almacenamiento refrigerado de uvilla (*Physalis peruviana* L.) orgánica sin capuchón tratada con radiación UV-C. [Internet] [tesis]. [Quito, Ecuador]: Universidad Tecnológica Equinoccial; 2012 [citado 18 de octubre de 2018].
44. Juli D, Arias E. Antocianinas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en dos clones de papa nativa del genero *Solanum* de pulpa azul y roja. [internet] [tesis]. [ Cusco, Perú]. Universidad Nacional De San Antonio Abad Del Cusco; 2011 [citado 16 de octubre del 2018].
45. Paladino SC. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera* L.) [Internet] [Tesis]. [La Rioja, Colombia]: Universidad Nacional de Cuyo; 2012 [citado 8 de noviembre de 2018].

46. Knapp S. A revision of the dulcamaroid clade of *Solanum* L. (Solanaceae) [Internet] PhytoKeys; Washington, U.S.A. 2013 [citado 10 de octubre de 2018]. 441 p. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=GcdNEheSwygC&pg=PA199&lpg=PA199&dq=solanum+nitidum+%22%C3%B1u%C3%B1umaya%22&source=bl&ots=zmVOvIQJtV&sig=DEcTvLd7Jg53Dn774mKMejPdAs&hl=es419&sa=X&ved=2ahUKEwjsnOqrtJnfAhXHqFkKHS6zD7cQ6AEwC3oECAIQAQ#v=onepage&q&f=false>.
47. Mixcan C. Evaluacion de fenoles totales, antocianinas totales y capacidad antioxidante en diez clones mejorados de papa nativa (*solanum tuberosum* sp) de la región Cusco. [internet] [tesis]. [ Cusco, Perú]. Universidad Católica de Santa María; 2015 [citado 16 octubre 2018].
48. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. Métodos en el Estudio de los Productos Naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2da Edición. Fondo Editorial; 1994.
49. Bruneton J. Plantas medicinales Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Primera edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza - España. 2001



## **IX. ANEXOS**



**Anexo 1. Certificado de identificación de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", 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 Fito medicamentos "Marco A. Garrido Malo "**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de Investigación.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	SOLANALES
FAMILIA	:	SOLANACEAE
GENERO	:	Solanum
ESPECIE	:	<b><i>Solanum nitidum</i> R. &amp; P.</b>
N.V.	:	"ñuñunga"

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

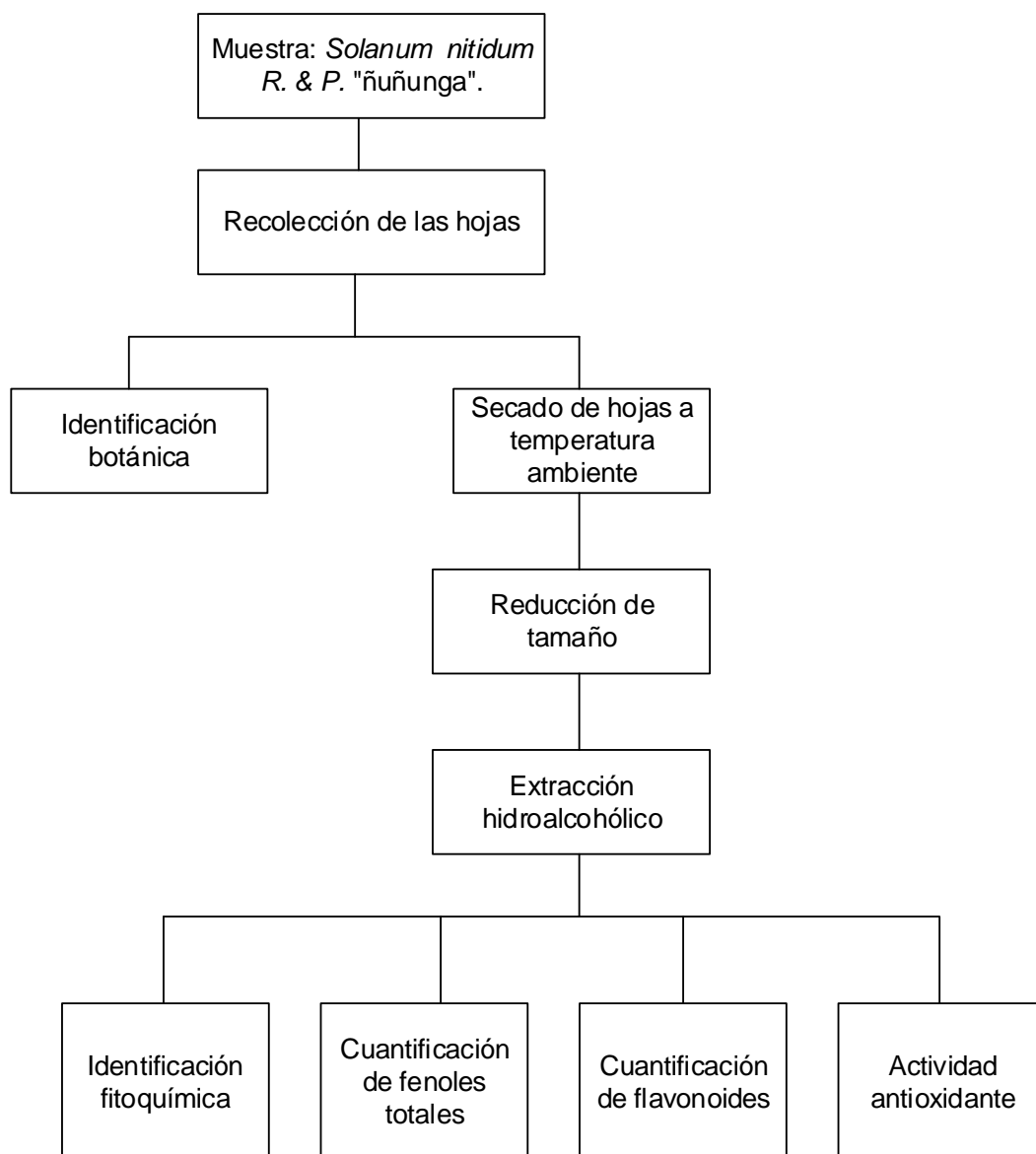
Ayacucho, 07 de Setiembre del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
  
**Dña. Laura Aucastine Medina**  
JEFE

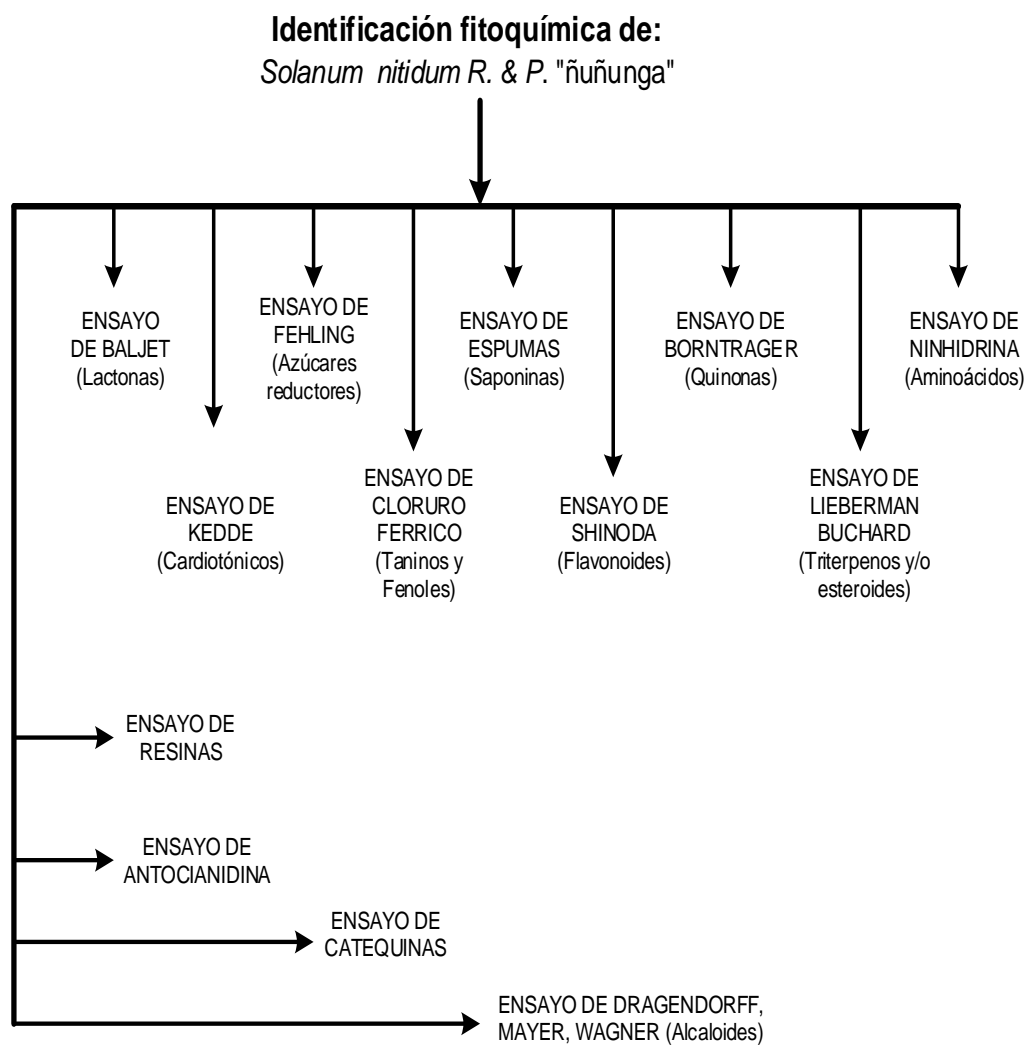
**Anexo 2.** Fotografía de las hojas, flores y frutos de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018



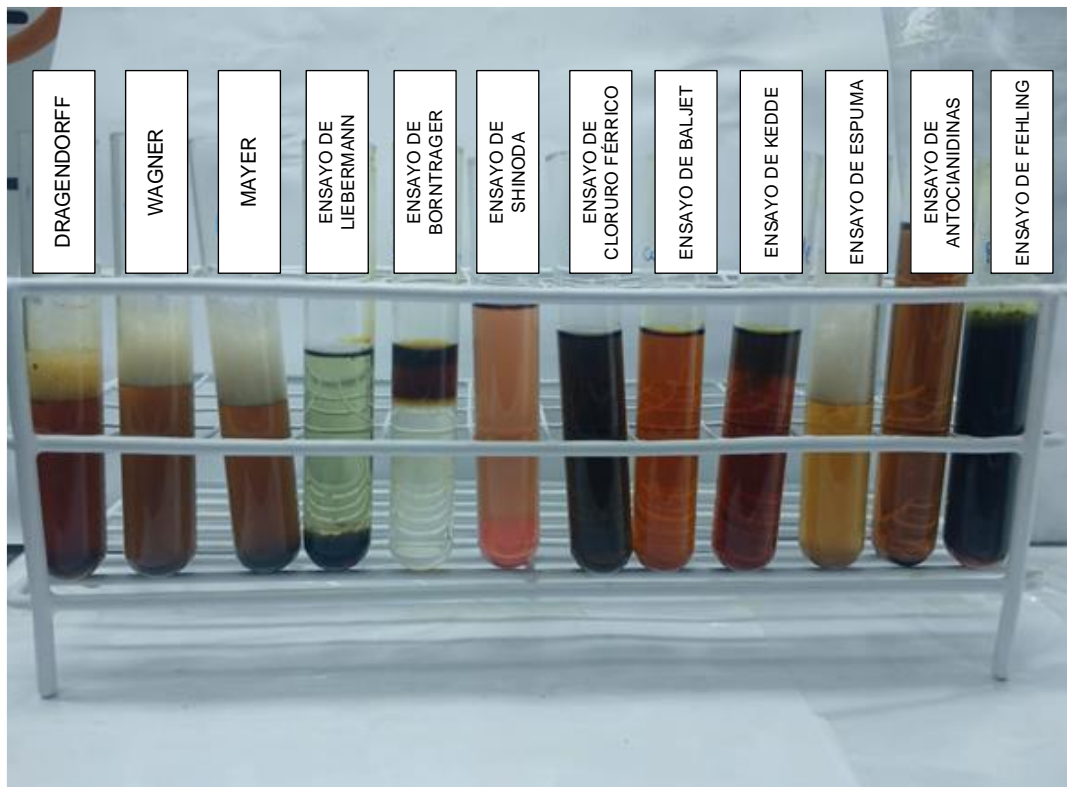
**Anexo 3.** Flujograma de procedimientos a seguir para la determinación de la actividad antioxidante de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.



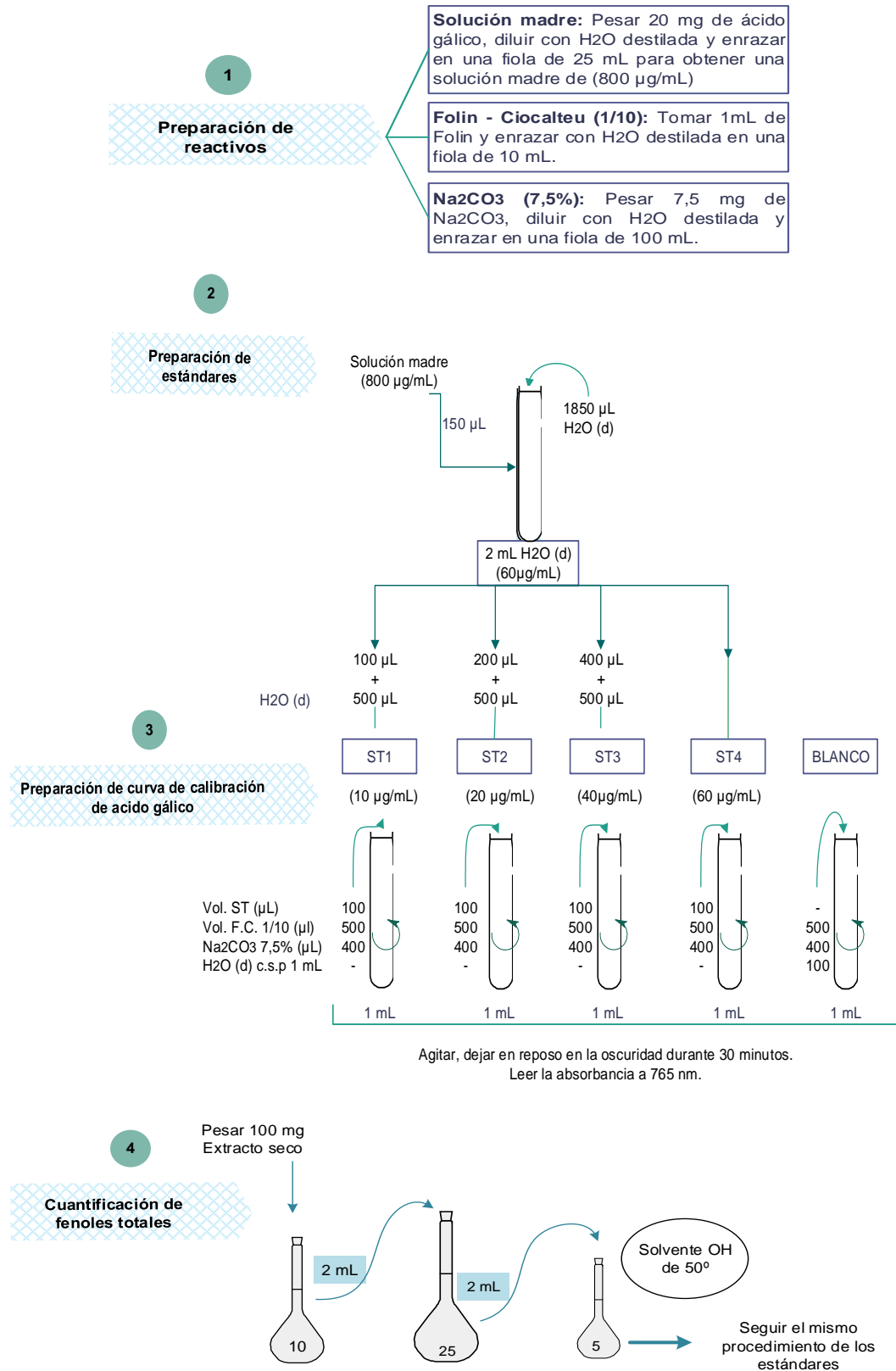
**Anexo 4.** Identificación fitoquímica del extracto seco de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.



**Anexo 5.** Resultados de la identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.

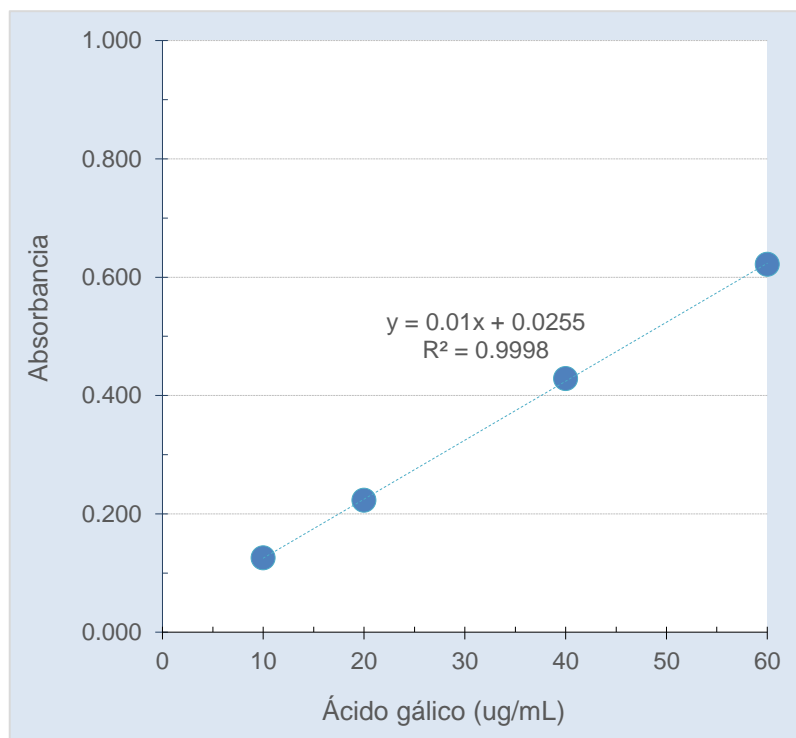


**Anexo 6.** Metodología para cuantificación de fenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum R.* & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.





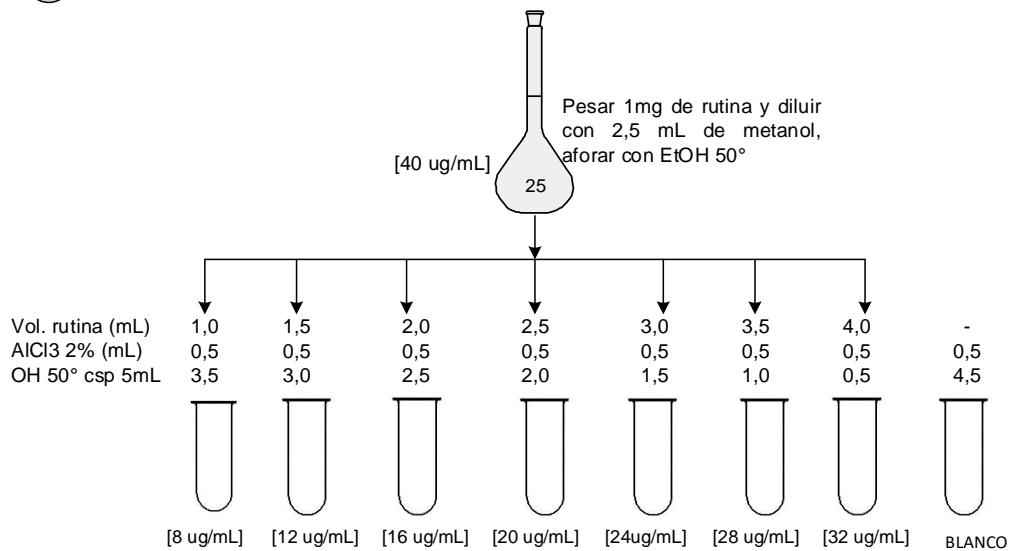
**Anexo 7.** Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.



**Anexo 8.** Protocolo para la determinación del contenido de flavonoides totales en del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.

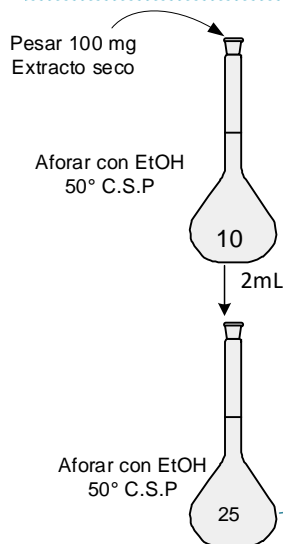
### CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

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

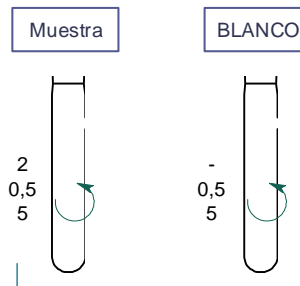


Dejar reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente y leer la Absorbancia a 415 nm.

#### 2 Preparación de la muestra

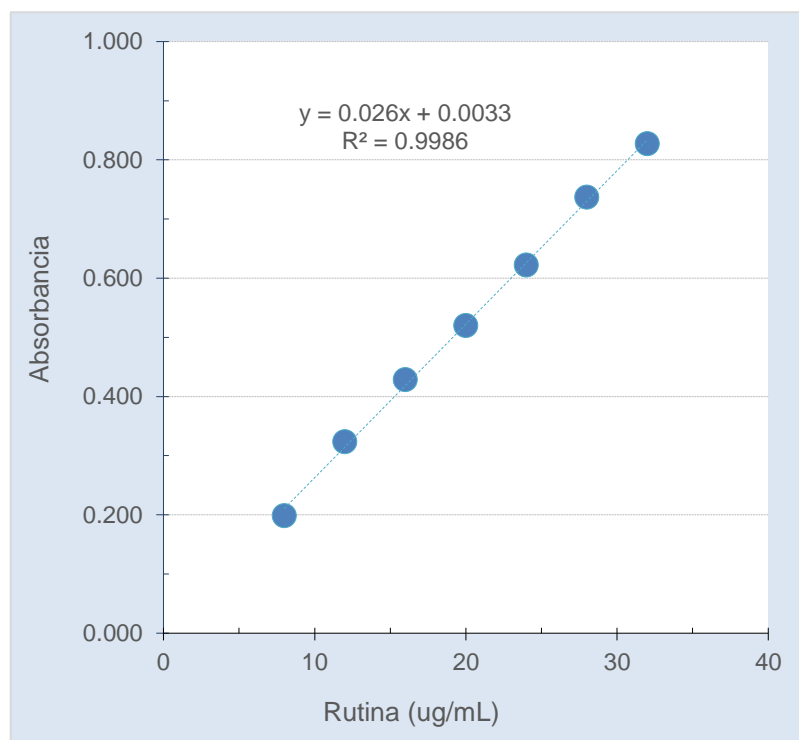


#### 3 Lectura de muestras



Agitar, dejar en reposo en la oscuridad durante 30 minutos. Leer la absorbancia a 415 nm.

**Anexo 9.** Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.



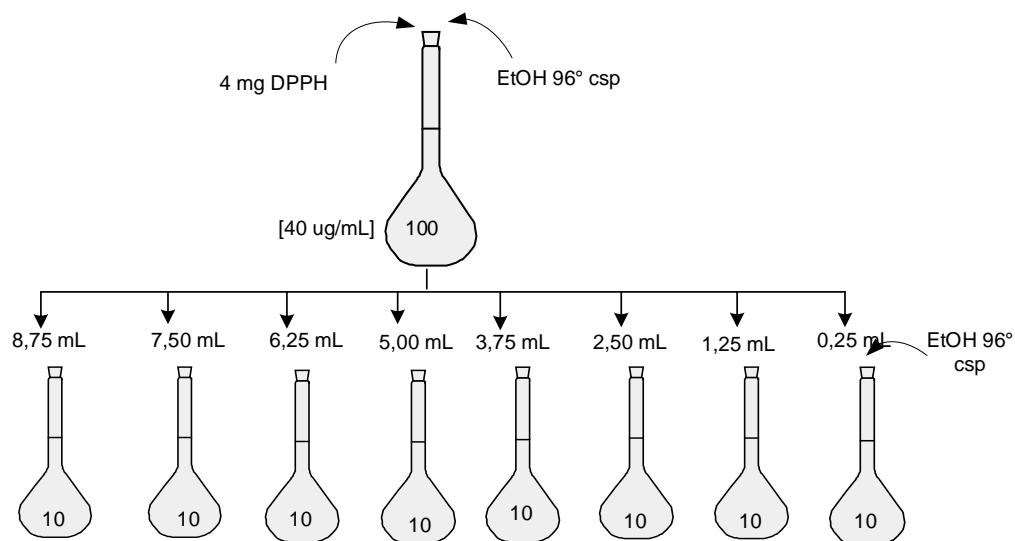
**Anexo 10.** Protocolo para la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.

### MÉTODO DPPH

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

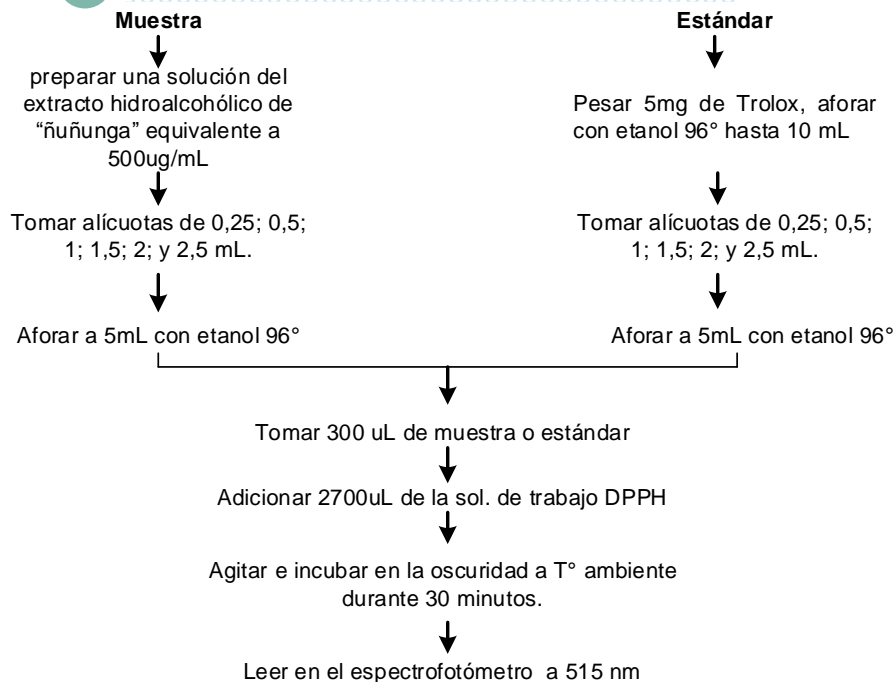
→ Pesar 4mg de DPPH, aforar a 100 mL con EtOH 96°.

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

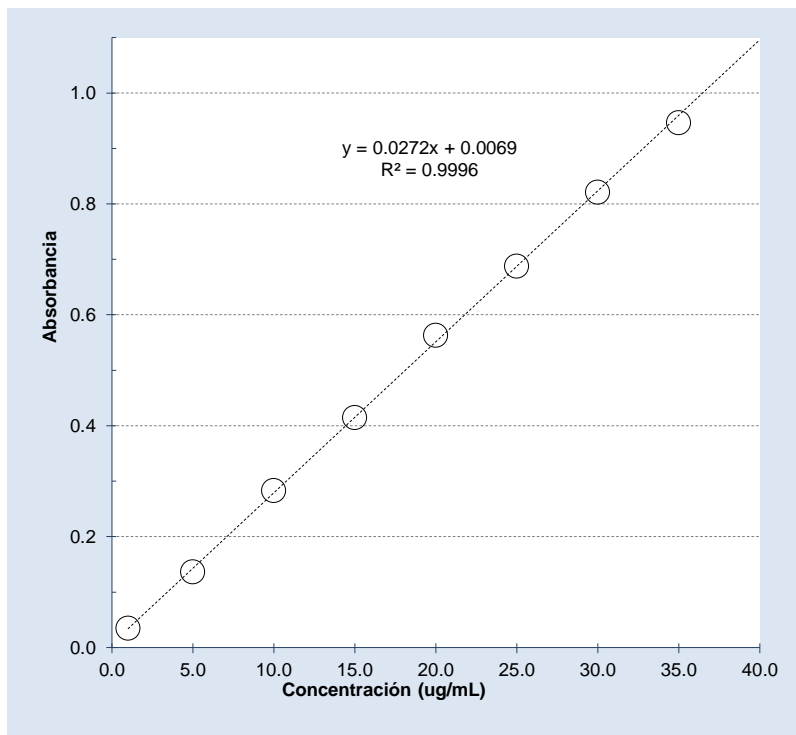


Leer la Absorbancia a 515 nm, calibrar el espectrofotómetro con EtOH 96°.

#### 3 Determinación de la actividad antioxidante



**Anexo 11.** Curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante, según el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.



**Anexo 12.** Comparación de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH.

**A) Estándar Trolox**

[ug/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	26,14	0,292	1,117	0,73	26,86	25,41
50	53,39	0,267	0,501	0,66	54,06	52,73
100	94,84	0,173	0,182	0,43	95,27	94,41
150	95,38	0,173	0,181	0,43	95,81	94,95
200	95,69	0,096	0,100	0,24	95,93	95,45
250	96,13	0,083	0,086	0,21	96,34	95,92

**B) Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga".**

[ug/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	4,51	0,123	2,731	0,31	4,81	4,20
50	9,67	0,213	2,204	0,53	10,20	9,14
100	19,58	0,203	1,036	0,50	20,08	19,07
150	30,57	0,398	1,301	0,99	31,56	29,58
200	39,52	0,186	0,471	0,46	39,98	39,06
250	49,23	0,168	0,341	0,42	49,64	48,81

**Anexo 13.** Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	17418,4	5,0	3483,7	48135,6	2,25 x 10 <sup>-25</sup>
Dentro de grupos	0,9	12,0	0,1		
Total	17419,3	17			

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

Si: Sig. < 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 *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.

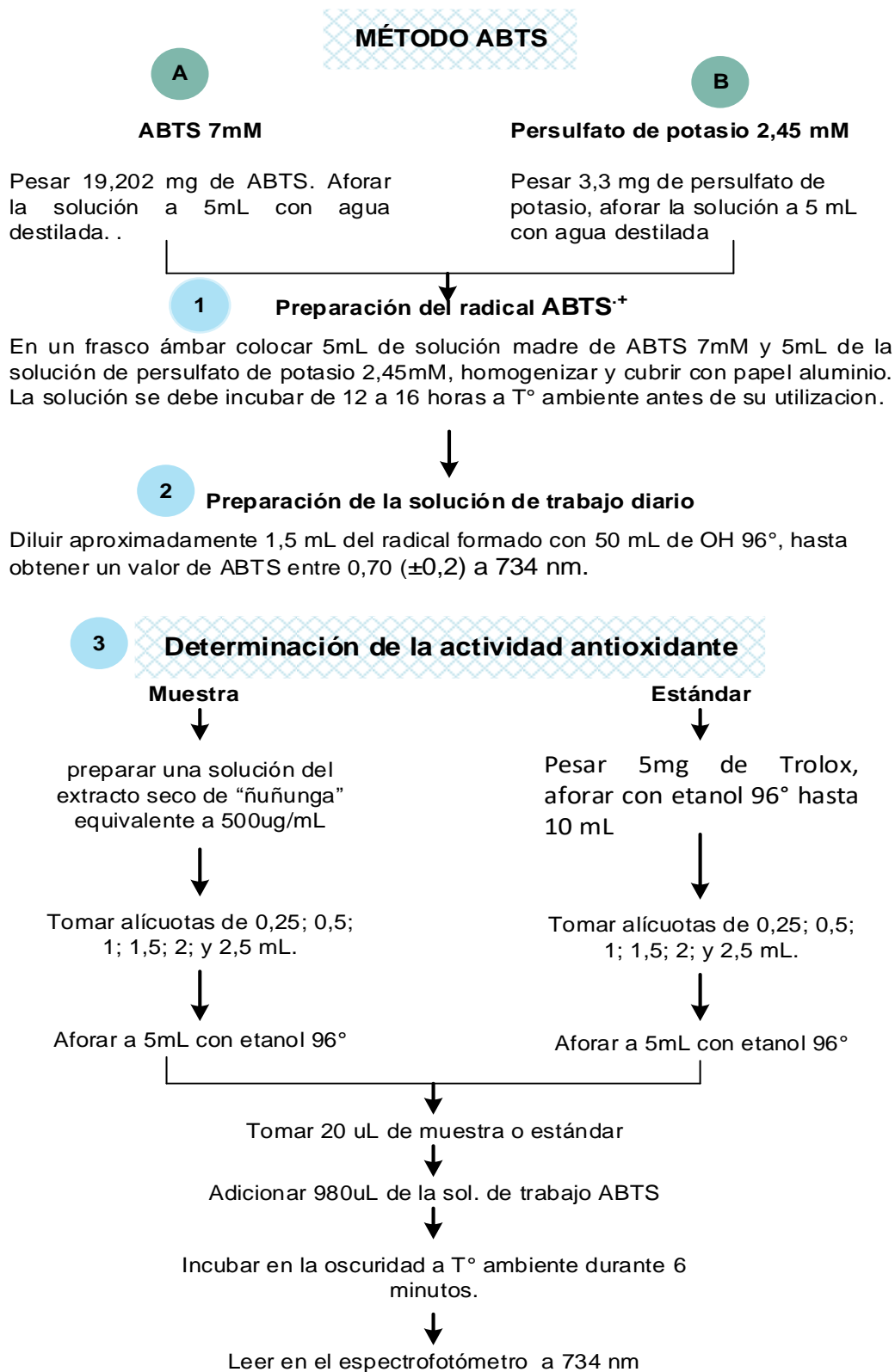
Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA					
		1	2	3	4	5	6
S_nitidum 25 ug/mL	3	4,5					
S_nitidum 50 ug/mL	3		9,7				
S_nitidum 100 ug/mL	3			19,6			
Trolox 25 ug/mL	3				26,1		
Trolox 50 ug/mL	3					53,4	
Trolox 100 ug/mL	3						94,8
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Se muestran las medias para los grupos en los subgrupos homogéneos

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



**Anexo 15.** Protocolo para la determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS, del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.



**Anexo 16.** Comparación de la actividad antioxidante mediante la captación del radical ABTS.

A) Estándar Trolox

[ug/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	9,96	0,182	1,825	0,45	10,41	9,51
50	15,40	0,248	1,609	0,62	16,02	14,79
100	32,51	0,206	0,634	0,51	33,02	32,00
150	53,98	0,248	0,459	0,62	54,60	53,37
200	65,99	0,418	0,633	1,04	67,02	64,95
250	84,04	0,777	0,925	1,93	85,98	82,11

B) Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga".

[ug/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	1,34	0,438	32,710	1,09	2,43	0,25
50	4,71	0,253	5,367	0,63	5,34	4,08
100	9,82	0,243	2,474	0,60	10,43	9,22
150	13,64	0,306	2,242	0,76	14,40	12,88
200	19,39	0,306	1,577	0,76	20,15	18,64
250	21,83	0,351	1,607	0,87	22,70	20,95

**Anexo 17.** Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical ABTS del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.

	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Entre grupos	12602,2	5,0	2520,4	8768,9	6,15 x 10 <sup>-21</sup>
Dentro de grupos	3,4	12,0	0,3		
Total	12605,6	17			

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

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

**Anexo 18.** Comparación múltiple de DUNCAN de la actividad antioxidante mediante la captación del radical ABTS del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA					
		1	2	3	4	5	6
S_nitidum 150 ug/mL	3	13,6					
S_nitidum 200 ug/mL	3		19,4				
S_nitidum 250 ug/mL	3			21,8			
Trolox 150 ug/mL	3				54,0		
Trolox 200 ug/mL	3					66,0	
Trolox 250 ug/mL	3						84,0
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Se muestran las medias para los grupos en los subgrupos homogéneos

b. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,00

## Anexo 19

### Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
<p>Contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de <i>Solanum nitidum</i> R. &amp; P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.</p>	<p>¿Cuál será el contenido de fenoles totales y flavonoides de <i>Solanum nitidum</i> R. &amp; P. "ñuñunga"? ¿Tendrá actividad antioxidante el <i>Solanum nitidum</i> R. &amp; P. "ñuñunga"?</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>Solanum nitidum</i> R. &amp; P. "ñuñunga", Ayacucho 2018.</li> </ul> <p><b>Específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cuantificar el contenido de fenoles totales de <i>Solanum nitidum</i> R. &amp; P. "ñuñunga".</li> <li>• Cuantificar el contenido de flavonoides totales de <i>Solanum nitidum</i> R. &amp; P. "ñuñunga".</li> <li>• Evaluar la actividad antioxidante de <i>Solanum nitidum</i> R. &amp; P. "ñuñunga".</li> </ul>	<p>El <i>Solanum nitidum</i> R. &amp; P. "ñuñunga", 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 Familia Solanaceae <i>Solanum nitidum</i> R. &amp; P. Estrés oxidativo Radicales libres Compuestos fenólicos Antioxidantes Metodología para la actividad antioxidante</p>	<p><b>Población:</b> Hojas de <i>Solanum nitidum</i> R. &amp; P. "ñuñunga", que crecen en la comunidad de Huaraca, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. <b>Muestra:</b> 2-3 kg de hojas frescas. <b>Muestreo:</b> no probabilístico o por conveniencia <b>Recolección de la muestra</b> <b>Secado, molienda y atomizado</b> <b>Tamizaje fitoquímico:</b> según del método de Pérez et al., (2011). <b>Cuantificación de fenoles totales:</b> según el método de Folin Ciocalteau. <b>Cuantificación de flavonoides totales:</b> método espectrofotométrico según Palomino L., (2009). <b>Actividad antioxidante:</b> según el método DPPH Y ABTS. <b>Análisis de datos</b> Se realizará un análisis de varianza (ANOVA) utilizando un nivel de significancia del 95%.</p>

