

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA**



**Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico
de la pulpa del fruto de *Corryocactus brevistylus*
(K. Schium, ex Vaupel) Briton & Rose "sanky".**

Ayacucho – 2011

**Tesis para optar el título Profesional de:
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

PRESENTADO POR:

Bach. ARIMANA TITO, Gladys Rosario

AYACUCHO – PERÚ

2012

DEDICATORIA

A DIOS, a mis padres Luis y Aurelia, a mis hermanos a vladimir. A mis profesores y amigos.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de profesionales competentes por ende a los docentes, por su constancia en el desarrollo profesional de sus estudiantes.

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

Al Mg. Enrique Aguilar Felices por su asesoría y apoyo constante.

A todos las personas que me brindaron su apoyo en la realización del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE

	pag
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
INDICE.....	iv
RESUMEN.....	v
INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCOTEÓRICO.....	4
2.1. Antecedentes.....	4
2.2.1 Características Generales.....	6
2.3 Radicales Libres.....	7
2.4 Fenoles.....	12
2.5. Antioxidantes.....	13
2.6 Ácido Ascórbico.....	14
2.7 Vitamina E.....	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1 Ubicación.....	17
3.2 Población y muestra.....	17
3.3 Tipo y nivel de investigación.....	17
3.4 Métodos para la recolección de datos.....	18
3.5. Determinación de la actividad antioxidante por el método de captación del Radical Libre (DPPH).....	20
3.6. Análisis de datos.....	22
IV RESULTADOS.....	23
V. DISCUSIONES.....	28
VI. CONCLUSIONES.....	35
VII. RECOMENDACIONES.....	36
ANEXOS.....	43

Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la pulpa del fruto de *Corryocactus brevistylus* (K.Schium, ex Vaupel) Briton & Rose "sanky". Ayacucho-2011.

Autor : Bach. Gladys Rosario ARIMANA TITO

Asesor : Mg. Enrique Aguilar Felices

RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la pulpa del fruto *Corryocactus brevistylus* "sanky", determinar los metabolitos secundarios presentes y comparar la actividad antioxidante del *Corryocactus brevistylus* "sanky" con el ácido ascórbico. El trabajo fue realizado en los Laboratorios de Farmacognosia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, con un tipo de investigación básica-descriptiva. El fruto fue recolectado en distrito de Quito Arma, del Departamento de Huancavelica. Se realizó el tamizaje fitoquímico mediante pruebas de coloración y precipitación; para la actividad antioxidante se usó el método espectrofotométrico usando el DPPH (1,1 difenil-2 picrilhidrazilo), como fuente de radicales libres se trabajó con concentraciones de *Corryocactus brevistylus* "sanky" a 100 ug/mL, ug/mL y 10 ug/ml y expresándose en porcentaje de inhibición de captación de radicales libres DPPH. Los resultados mostraron que el extracto hidroalcohólico de *Corryocactus brevistylus* "sanky" en la concentración de 100 ug/mL presentó 54.60% de porcentaje de inhibición de captación de radicales libres DPPH, comparándose con la vitamina C, que en la misma concentración presentó 96.35% de porcentaje de inhibición de captación de radicales libres. El extracto hidroalcohólico presentó fenoles, aminoácidos y saponinas. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de *Corryocactus brevistylus* "sanky" presentó mediana actividad antioxidante comparada con el ácido ascórbico, el motivo de esta mediana actividad sería la cantidad de agua presente en el fruto además de la ausencia de flavonoides en la muestra, Anova (p-0,05)

PALABRAS CLAVE: *Corryocactus brevistylus*, extracto hidroalcohólico, actividad antioxidante, DPPH, radical libre.

I. INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional peruana, herencia de tiempos precolombinos, sigue siendo la primera instancia de consulta y tratamiento en gran parte de nuestro país. En ella las plantas medicinales ocupan un rol muy importante, con una variada flora de aproximadamente 80,000 especies, gracias a los diversos pisos ecológicos y microclimas que presenta el suelo peruano. Por tanto surge una serie de trabajos de investigación encaminados a demostrar las propiedades medicinales de las plantas y la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos (Villar y Villavicencio, 1992).

Con los años se producen alteraciones fisiológicas y estructurales en casi todos los órganos y sistemas como el muscular y articular, los cuales sufren un deterioro progresivo que ocurren en nuestros años de adulto y que nos hace vulnerables a las enfermedades. Los profesionales de la salud y la población en general debemos comprender que la solución efectiva para el envejecimiento y las enfermedades es la prevención (Fito, 2002).

El proceso degenerativo que trae consigo, además de "envejecimiento", una serie de enfermedades, se encuentra relacionado con los procesos de los radicales libres y sobre estos la acción de los antioxidantes, neutralizando la

acción de los radicales libres y retrasando los procesos de envejecimiento y destrucción celular (Fito, 2002).

La formación de radicales libres produce el estrés oxidativo y como resultado de éste las lesiones tisulares que están vinculados con más de 100 enfermedades del ser humano y de los animales. En particular parecen ser especialmente susceptibles al daño oxidativo el pulmón, el corazón y el hígado, por la respiración del metabolismo, aunque exista la suficiente cantidad de radicales libres para lesionar cualquier tejido. Los radicales libres son uno de los factores asociados a las úlceras y la inflamación intestinal, que tiene un rol muy importante en el daño a nivel de las células y/o tejidos (Ku, 1997).

El sistema antioxidante provee al organismo de defensas contra la acción dañina de los radicales libres; estas defensas son múltiples, variadas y operan en diferentes niveles y momentos. La salud de los peruanos se relaciona con el adecuado balance oxidativo; es decir, que radicales libres y antioxidantes estén en equilibrio de modo tal que se minimice el daño celular y se retarde la aparición de enfermedades (Paredes y Roca, 2002).

Al ver que muchas enfermedades aquejan a nuestra sociedad en estas épocas modernas, nos vimos en la obligación de realizar el presente trabajo con la finalidad de dar a la población una alternativa de tratamiento frente a sus problemas de salud y de esta manera mejorar el desempeño cotidiano, con una buena salud dentro de esta sociedad.

El trabajo que se realizó fue un ensayo in vitro para determinar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la pulpa del fruto del *Corryocactus brevistylus* "sanky", Por estas consideraciones nos llevaron a plantearnos los siguientes objetivos:

Objetivo General:

- Evaluar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la pulpa del fruto de *Corryocactus brevistylus* "sanky".

Objetivos específicos:

- Determinar los metabolitos secundarios presente en la pulpa de fruto del *Corryocactus brevistylus* "sanky".
- Comparar el efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de la pulpa del fruto de *Corryocactus brevistylus* "sanky" con el ácido ascórbico (Vitamina C).

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Aguilar (2000), determinó el efecto antioxidante de la *Oenothera rosea* "yawar soqo" muestra efecto antioxidante por la actividad inhibitoria contra la formación de radicales libres, responsables del efecto toxico sobre las células y considera que los flavonoides son los responsables de dicha actividad.

Bautista (2002), realizó una investigación sobre la actividad antioxidante por captación de radicales libres en extractos de *Solanum radicans* L. f "ñuchcu", *Ligaria cuneifolia* (R&P) Van Tieghem "tullma" y *Lavatera arbórea* L. "malva". Concluyendo que la *Ligaria cuneifolia*, *Lavatera arbórea* y *Solanum radicans* mostraron actividad antioxidante; de las cuales *Ligaria cuneifolia* mostró mayor actividad, 95,78% seguido de la *Solanum radicans* 54,04% y *Lavatera arbórea* 19,38% con una menor actividad respectivamente.

Sumari (2003), evaluó la capacidad de actividad antioxidante de la parte comestible de los frutos de *Opuntia ficus indica* "tuna", *Opuntia soehrensii* "ayrampo", *Annona cherimolia* "chirimoya", *Lucuma obovata* "lúcuma", *Physalis peruviana* "capuli". Se demostró que el promedio total del porcentaje de inhibición de DPPH a 30 minutos que se obtiene en la muestra de *Opuntia soehrensii* "ayrampo" es mayor en relación a las distintas muestras analizadas,

para *Opuntia ficus indica* "tuna" se obtuvo un promedio total del porcentaje de inhibición de DPPH a 30 minutos 1,82%, *Opuntia soehrensii* "ayrampo" un promedio total del porcentaje de inhibición de DPPH a 30 minutos de 55,96%, *Annona cherimolia* "chirimoya" un promedio total del porcentaje de inhibición de DPPH a 30 minutos de 8,92%, *Lucuma ovobata* "lúcuma" un promedio total del porcentaje de inhibición de DPPH a 30 minutos de 12,84%, *Physalis peruviana* "capullí", con un promedio total del porcentaje de inhibición de DPPH a 30 minutos de 7,65%.

Quispe (2004), evaluó la actividad antioxidante por captación de radicales libres del etanólico de la hojas de *Rosmarinus officinalis* "romero", donde 67,26% en el extracto etanólico al 1%, siendo la actividad antioxidante directamente proporcional a la concentración, y que los flavonoides y taninos son responsables de dicha actividad.

Ramírez (2003), realizó la "Actividad antioxidante de los extractos etanólicos del propoleo *Apis mellifera* "abeja", las cuales presentaron un gran potencial antioxidante teniendo al extracto blando de 2,50mg/ml, con un porcentaje de inhibición de 84,40% que hubo mayor actividad antioxidante.

Ortiz, (2010), realizó una investigación sobre la extracción de betalainas y determinación de la actividad antioxidante de raíz de *Beta vulgaris* "betarraga", fruto de *Opuntia ficus indica* "tuna" y flores de *Amaranthus caudatus* "kiwicha". Llegando a la conclusión que, la raíz de *Beta vulgaris*, flores de *Amaranthus caudatus* "kiwicha" el fruto de *Opuntia ficus indica* "tuna" contienen betalainas, caracterizados como betacianinas y betaxantinas, en cantidades de 0,14g%; 0,28g% de betacianinas, y 0,10g%; 0,23g% y 0,38g% de betaxantinas respectivamente

2.2. Clasificación sistemática

***Corryocactus brevistylus* “sanky”**

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Sub Clase	:	Caryophyllidae
Orden	:	Caryophyllales
Familia	:	Cactaceae
Género	:	<i>Corryocactus</i>
Especie	:	<i>Corryocactus brevistylus</i> (K.Schum, ex Vaupel) Britton & Rose.
Sinonimia	:	<i>Cereus brevistylus</i> .Sechum.
Nombre vulgar	:	“sanky”

Fuente: El certificado fue emitido por el Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. (ANEXO N° 01).

2.2.1 Características Generales

2.2.2 Descripción Botánica. La especie *Corryocactus brevistylus* “sanky” Presenta tallos carnosos que alcanzan hasta 2-5 m de altura, ramificados libremente desde la base, formando grandes grupos; verde oscuros a verde claros-amarillentos; 7-8-costillas, con espinas, las más largas de 24 cm de largo. Florece diurnamente, flores amarillas, fragantes, 5-6 cm de largo x 10 cm de ancho; fruto baya verde-amarillenta, redonda y jugosa, de 12 cm de diámetro, con abundantes espinas (Faúndez, 2010).

2.2.3 Usos en la Medicina tradicional

Reduce el tejido adiposo, el colesterol y triglicéridos, eliminando problemas

cardiacos y coronarios (Cornejo, 1987).

Actúa sobre el estómago reduciendo la acidez natural y eliminando la gastritis y las úlceras. Contiene pectinas que regeneran la mucosa gástrica (Cornejo, 1987)

Es cicatrizante, regenerando a nivel celular y tisular sus órganos afectados (Cornejo, 1987).

Su alto poder desintoxicante le confiere propiedades hepatoprotectoras, mejora la circulación, limpia los riñones, fortalece el hígado, sus arterias y el corazón (Cruz, 2012).

Es reconstituyente, por lo que se recomienda para el cansancio mental y psicológico, físico y nervioso, útil contra la falta de apetito y anemia (Cruz, 2012).

Estimula el páncreas y regula naturalmente la glucosa. por darse en tierras calcáreas el "sanky" contiene calcio naturalmente que ayuda en problemas de osteopenia y osteoporosis. Por las gomas naturales que contiene combate el estreñimiento. Limpia el colon y el intestino grueso previniendo el cáncer y otras enfermedades degenerativas (Huertas y Condor, 2012).

Tiene propiedades antitumorales y anticancerígenas, recomendado para prevenir y combatir cáncer de colon, próstata, cuello uterino, mamas y tumores en general (Huertas y Condor, 2012).

Es un efectivo reconstituyente del sistema nervioso, provee de tranquilidad e induce a relajación. Fortalece el Sistema Inmunológico, por lo que se recomienda a pacientes convalecientes, para evitar recaídas y en pacientes con enfermedades depresoras (Huertas y Condor, 2012).

2.3 Radicales Libres

Un radical libre es un fragmento molecular con un electrón suelto en su órbita exterior, no apareado, la existencia de éste electrón sin pareja lo hace muy inestable y recorren nuestro cuerpo intentando robar un electrón con vistas a

recuperar su estabilidad electroquímica, haciéndolos muy peligrosos, porque para conseguirlo atacan moléculas estables. Los radicales libres no son intrínsecamente malos, de hecho, nuestro propio organismo los fabrica en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus, que son neutralizados fácilmente por nuestro propio organismo, por enzimas como la catalasa o la superóxido dismutasa (Murray y Col., 1994).

En los sistemas orgánicos, hay dos caminos para la producción de radicales libres. El primero abarca las reacciones iniciadas por drogas, alcohol y otros agentes tóxicos, y el segundo comprende la reducción enzimática controlada, de un electrón del oxígeno molecular, proceso que se lleva a cabo durante la respiración normal. Durante la respiración, en la cadena de transporte de la mitocondria, los electrones pasan, uno por uno dentro del oxígeno. La molécula de oxígeno necesita cuatro electrones para ser reducida completamente, formándose estadios intermedios de reducción con la producción de moléculas particularmente reactivas: los radicales. Ciertas restricciones físicas determinan que el oxígeno solo puede recibir un electrón a la vez, para producir agua se necesitan cuatro electrones. Este camino de reducción del oxígeno lleva a la producción de radicales libres (Litter, 1998).

La vida biológica media del radical libre es de microsegundos. Tienen la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a las moléculas e integrantes de la estructura celular: carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados de cada uno de ellos, cuando éstas son atacados por radicales libres, se altera su estructura molecular. Tales reacciones pueden causar una cascada de radicales libres, atacando y dañando otras moléculas aledañas, continuando así una reacción en cadena (Montero, 1996).

Los radicales libres de oxígeno pueden afectar alguno de los residuos de aminoácidos de las proteínas; sabiendo que pueden modificar el grupo imidazol o los grupos sulfhidrilo, los que serían de importancia para que diversas enzimas ejerzan acción catalítica dando lugar a alteraciones enzimáticas de las permeabilidades iónicas de membrana y la transducción de señales intercelulares e intracelulares y comprometen la función celular, así tenemos la disminución consecuentemente de la actividad de $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPasa}$ (Guija y Troncoso, 2000).

Los radicales libres pueden iniciarse dentro de las células por:

- La absorción de energía radiante.
- Reacciones endógenas, habitualmente oxidaciones, que se producen durante los procesos metabólicos normales.
- El metabolismo enzimático de sustancias químicas.

El mecanismo de cada una de ellas es distinta pero en todos los casos forman radicales libres que producen la lesión celular (Paredes, 2002).

Los efectos de estas especies reactivas son de amplio rango, pero tres reacciones son particularmente importantes para la lesión celular:

a. Peroxidación de los lípidos de las membranas.- Las membranas plasmáticas y de las organelas poseen ácidos grasos insaturados que son propensos al ataque de los radicales libres derivado del oxígeno, en particular OH^\cdot generando más radicales libres, originando una reacción autocatalítica en cadena con lesión de la membrana, organelas y células (Robbins, 2000).

b. Modificación oxidativa de las proteínas.- Los radicales libres promueven la formación de enlaces cruzados mediada por sulfhidrilo de aminoácidos débiles como la metionina, histidina, cistina y lisina, además de causar una

fragmentación de las cadenas de polipéptidos maligna de las células (Robbins,2000).

2.3.1 Efecto de los radicales libres en los organismos vivos.

Los radicales libres presentan una extraordinaria capacidad para fijarse a las moléculas de todo tipo, presentando una doble acción en los organismos vivos:

2.3.2 Protectora.- La descarga respiratoria de los fagocitos en actividad, no llena una necesidad energética; sino que está dirigida a la producción de metabolitos de oxígeno, alguno de éstos verdaderos radicales, destinados a destruir a las bacterias invasoras fagocitadas, gracias a su poderosa actividad oxidante. En efecto la infección está comúnmente asociada a la inflamación y este último tipo de daño puede estar relacionado no sólo con las fuerzas atacantes, sino también, con la actividad de las células defensoras (Humberman, 1996).

2.3.3 Injuriante.- El anión superóxido ($O_2^{\cdot -}$) y el radical hidroxilo (OH^{\cdot}), junto con el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como intermediario entre ambos que no es un radical en sentido estricto. Estos tres metabolitos y particularmente el OH^{\cdot} , son altamente reactivos, por lo tanto tóxicos, fijándose a los componentes estructurales básicos de las células (Wolf, 1991).

a. Proteínas.- Los radicales libres de oxígeno pueden afectar alguna de los residuos de aminoácidos de las proteínas. Se ha descrito que pueden modificar el grupo imidazol o los grupos sulfhidrilo, los que serían de importancia para que diversas enzimas ejerzan acción catalítica, dando lugar a alteraciones enzimáticas de las permeabilidades iónicas de membrana y la transducción de señales intercelulares e intracelulares y comprometen la

función celular Así tenemos, la disminución consecuentemente de la actividad de Na^+/K^+ ATPasa (Guija y Troncoso, 2000).

b. Ácidos Nucleicos.- La intensidad del daño que los radicales libres pueden ocasionar al ADN difiere en razón de la localización de éste, ya que el ADN que se encuentra en la mitocondria está más expuesto a la acción de los radicales libres, debido a que no dispone de las proteínas que podrían ejercer una acción protectora, conforme sucede con el ADN nuclear. Los radicales libres derivados del oxígeno y en particular el OH^\bullet , son capaces de fijarse con extraordinaria avidez a la purina y pirimidina, constitutivas de las bases de ADN, alterando su estructura y produciendo daños importantes en el ADN que pueden ser por:

Rotura y alteración de las bases por hidroxilación particularmente a través del H_2O_2 por la reacción de Fenton. El radical OH^\bullet , solo o en presencia de H_2O_2 , también produce rotura del ADN. Producción de entrecruzamiento entre bandas de ADN; dando lugar a la producción de tumores y enfermedades autoinmunes (Sies, 1991).

c. Carbohidratos.- Los radicales libres pueden afectar la vía glucolítica por inactivación de la Gliceroaldehido-3-fosfato deshidrogenasa y disminución de N-acetilcisteína (NAC^\bullet). La relación de los radicales libres con los azúcares es muy interesante tanto desde el punto de vista bioquímico como clínico; puesto que, existe una enfermedad en la que gran parte de los daños estructurales y síntomas clínicos se pueden explicar por la relación entre los radicales libres, azúcares y proteínas, como es la diabetes. La glucosa es capaz de autooxidarse y generar radicales libres. Para que esto suceda es absolutamente necesaria la presencia de un metal de transición (cobre y

hierro), que catalice la reacción $O_2^{\cdot-}$ libres $\rightarrow H_2O_2 \rightarrow OH^{\cdot}$, con la ayuda del oxígeno (Wolf, 1991).

d. Lípidos.- los fosfolípidos de las membranas contienen una gran cantidad de ácidos grasos poliinsaturados, muy vulnerables a la peroxidación (Humberman, 1996).

Se inicia con la participación de un radical libre que da origen a otros radicales libres. Éstos derivan de los lípidos y dan lugar a una reacción en cadena, evento que podría tener una duración considerable dándose cambios estructurales y rotura de la bicapa constitutiva de todas las membranas celulares; pero este proceso, de propagación es más corta gracias a la presencia de antioxidantes en la célula (Guija y Troncoso, 2010)

2.4 Fenoles:

Estos compuestos han sido implicados en repetidas veces como antioxidantes, los cuales inhiben cerca del 80 % de la formación de peróxidos en un sistema de pruebas (Lock de Ugaz O, 1996). Los compuestos ácidos son un grupo fenólico que han sido implicados como efectivos antioxidantes como por ejemplo el ácido cafeico, el ácido clorogénico (Chavez y Col., 1996)

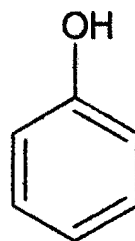


Figura 01. Estructura química del fenol.

2.5 Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que tienen la capacidad de inhibir la oxidación causada por los radicales libres (son el "batallón" que contrarresta los daños).

Unos actúan a nivel intracelular y otros en la membrana de las células, siempre en conjunto para proteger a los diferentes órganos y sistemas. Pueden ser digeridos como sustancias cuya acción consiste en inhibir la tasa de los nocivos radicales libres, éstos disminuyen las defensas produciendo daño celular con la posibilidad de producir cáncer, arteriosclerosis y envejecimiento. Los antioxidantes además son un grupo de vitaminas, minerales, enzimas, que tienen como función proteger a nuestro cuerpo de la formación de radicales libres, las enzimas que las neutralizan en nuestro organismo son cuatro: la superóxido dismutasa, metionina reductora, catalasa y glutatión (Halliwell, 1996)

2.5.1 Clases de antioxidantes

Existen antioxidantes naturales (fisiológicos), presente en nuestro organismo, o sistémicos; dentro de un grupo de los antioxidantes pueden ser enzimas que aumentan la velocidad de la ruptura de radicales libres, otros que provienen de la participación de iones de metales de transición en la generación de radicales libres y los inactivadores o barredores y de esta manera protegerían de la infecciones, deterioro celular, del envejecimiento prematuro probablemente del cáncer (Murray y Col., 1994).

Los antioxidantes pertenecen a dos clases: preventivos, que reducen la velocidad de la cadena, y los interruptores de la cadena, que interfieren con su propagación y se encuentran en las verduras y frutas de la dieta. Entre los preventivos se encuentran en el organismo de los seres vivos y tenemos a las catalasas y las peroxidasas; y los interruptores son a menudo fenoles o aminas aromáticas (vitamina C, los beta-caroteno) (Aldecoa, 1995).

Los antioxidantes pueden ser agrupados como:

2.5.2 Enzimáticos.-El grupo de enzimas que catalizan las reacciones de los radicales libres de oxígeno está integrado por (la superóxido dismutasa, el ciclo redox del glutatión (GSH) y las catalasa). De estos mecanismos enzimáticos, algunos actúan en el interior de las células, mientras que otros parecen ser más eficaces en el medio extracelular (Aldecoa, 1995).

2.5.3 No enzimáticos.-En este grupo de antioxidantes, tenemos al alfa tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), carotenos (Licopeno, Caroteno); flavonoides, ácido fenólicos, alcaloides, etc (Aldecoa, 1995).

2.6 Ácido Ascórbico

Se conoce como vitamina C, ascorbato o ascorbatato monoaniónico. El ácido ascórbico es un ácido débil cetolactona de 6 carbonos, tiene un P.M. 176,12 con una fórmula global; C: 40,9%, H: 4,58%, O: 54,51%.

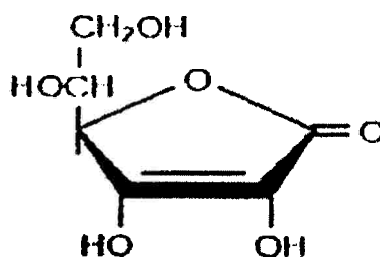


Figura Nº 02. Estructura del ácido ascórbico (Casanova, 2004).

El organismo humano posee mecanismos de enzimas protectoras: superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, proteínas de almacenamiento y transporte de iones metálicos y antioxidantes de la dieta, para defender sus propias células de lesiones que puedan causar los radicales libres sean estos generados como parte de los procesos metabólicos normales o anormales (Casanova, 2004).

Esto ha originado entusiasmo hacia la administración de nutrientes con efecto antioxidante con el objeto de proteger los tejidos y órganos de las consecuencias adversas del ataque de los radicales libres. Es por eso que tenemos al ácido ascórbico, que tiene importancia como antioxidante, inactivando especies de oxígeno altamente reactivo (Aldecoa, 1995).

En la inactivación de los radicales libres, el ácido ascórbico dona un electrón y como producto de esta reacción, las especies reactivas son extinguidas, permaneciendo el radical menos reactivo: radical- libre-ascorbil. Este radical es reducido a ácido ascórbico u oxidado a ácido dehidroascórbico (Barquinero, 1992).

2.7 Vitamina E

Estos compuestos existen no únicamente en plantas sino también en los tejidos de los mamíferos. La mayor actividad biológica corresponde al α -tocoferol; se ha demostrado que este es uno de los más activos antioxidantes "rompedores de cadena" (Chávez y Col., 1996).

Pertenece al grupo de vitaminas liposolubles ampliamente distribuidas en los alimentos. Su principal función descrita es como antioxidante natural que reaccionan con los radicales libres en los lípidos de la membrana lipídicas, estabilizando las estructuras de membrana; juega un papel importante en el mantenimiento del sistema circulatorio de la piel, del sistema reproductor y en el eficiente uso del oxígeno por la sangre y los músculos (Mc Gilvery y Col., 1996).

Su principal función sería la de inhibir oxidaciones iniciadas y mediadas por radicales libres, y muy particularmente las de ácido grasos polinsaturados (AGPI), por ser elementos más susceptibles a la auto oxidación. Puesto que AGPI forman parte importante de los fosfolípidos de membrana, su oxidación en cadena significa un grave deterioro en las funciones de la membrana; por eso

resulta significativa la abundante presencia de α -tocoferol en la membrana, donde se comporta como un protector fisiológico (Flores, 1997).

concentración, es decir que la actividad antioxidante es directamente proporcional a la concentración de los extractos.

Estos datos fueron comparados a un control o estándar de vitamina C, donde los resultados de los porcentaje de inhibición del radical libre con respecto a la vitamina C fueron: 100 ug/mL presentaron un porcentaje de inhibición del radical libre de 96,31 % de inhibición del radical DPPH, a la concentración de 50 ug/mL posee un 94.18 % de inhibición del radical DPPH. y a la concentración de 10 ug/mL posee un 92,36 % inhibición del radical DPPH.

Comparando los resultados se observó una gran variación de porcentajes del extracto hidroalcoholico de *Corryocactus brevistylus* "sanky", comparado a la de la vitamina C (Gráfico N° 02).

Un trabajo similar realizado por Matos y Col., 2010, sobre la determinación de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del sanky *Corryocactus brevistylus*, la cual se determinó la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del sanky (*Corryocactus brevistylus*). La distribución de los ensayos para la extracción de los compuestos fenólicos fue de acuerdo al diseño Box Behnken, Matos y Col utilizó como variables: concentración de etanol, temperatura de extracción y disolución materia prima solvente; y como variable respuesta el contenido de fenoles en la muestra. Para nuestro trabajo el diseño usado fue el de Suarez, la técnica usa el DPPH que es un compuesto de color azul violeta, se basa en la desaparición de dicho color hacia el amarillo pálido por la reacción de la sustancia antioxidante, pudiendo cuantificarse la reacción espectrofotométricamente a 515 nm por diferencia de absorbancia con lo que se determina el porcentaje de inhibición del radical DPPH.

Matos y Col eligió 3 muestras que representan el mínimo, medio y máximo contenido de fenoles de los 15 resultados del experimento y son los siguientes 0,259, 0,682 y 1,012 mg de ácido gálico/mL respectivamente, a estas muestras

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación

El trabajo de investigación se desarrolló en los Laboratorios del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH, por un periodo de 10 meses, a partir de agosto del 2011 a mayo del 2012.

3.2 Población y muestra

3.2.1. Población

Fruto de *Corryocactus brevistylus* (K. Schium ex Vaupel). Briton & Rose, "sanky", del distrito de Quito Arma, provincia de Huaytará, departamento de Huancavelica. Ubicado a 2100-2400 m.s.n.m. recolectado en horas de 6:00 am

3.2.2 Muestra

Se procedió a la recolección y selección de los frutos frescos de la especie elegida, para obtener 1kg de la pulpa del fruto. Se seleccionó los frutos no dañados ni maltratados y se procedió a su acondicionamiento y traslado en ómnibus a la ciudad de Huamanga para su estudio correspondiente. Una parte se utilizó para la identificación Botánica por la Blga Laura Aucasime Medina del Laboratorio de Botánica de la UNSCH.

3.3 Tipo de investigación. Básica – Descriptiva

3.4 Método para la recolección de datos

3.4.1 Preparación del extracto hidroalcohólico

3.4.1.1 Selección del material vegetal. Una vez recolectado el material vegetal, se procedió a seleccionarlos de acuerdo a las características de forma y tamaño de los frutos.

3.4.1.2. Obtención del extracto hidroalcohólico por maceración.

Luego de la selección del material vegetal, se procedió a retirar la cascara del fruto y para extraer la pulpa. Se obtuvo 1000 g de la pulpa del fruto y se extendió en un recipiente de vidrio para su secado en la estufa a 40°C por 5 días. Se utilizó 53 g gramos en un frasco ámbar con 300 mL de alcohol de 96° y se dejó reposar por 5 días con agitación constante. Se filtró utilizando el equipo de filtración al vacío y el extracto se concentró en una estufa hasta sequedad. El recipiente con el filtrado obtenido se llevó a una estufa para poder eliminar el solvente a 37°C por 10 horas. El residuo cristalizado obtenido, fue envasado como el extracto hidroalcohólico de "sanky".

3.4.1.3 Tamizaje fitoquímico

Se realizó ensayos fitoquímicos de acuerdo a la bibliografía (Miranda y Cuellar, 2000; Aguilar, 2002), se identificó los principales metabolitos secundarios, (cuadro N° 1). Una pequeña cantidad de muestra se colocó en tubos de ensayo para seguidamente realizar los diferentes ensayos de identificación:

- **Ensayo de Cloruro Férrico (FeCl_3), para identificación de taninos o fenoles.** Se utilizó aproximadamente 1mL de filtrado del macerado a la que se adicionó cloruro férrico, resultando una coloración azulina que indica reacción positivo.
- **Ensayo de Shinoda, para identificación de flavonoides.** A 1mL de filtrado del macerado se adicionó gotas de ácido clorhídrico concentrado,

adicionalmente se agregó de dos a tres cristaltos de magnesio metálico, la falta de cambio de coloración indica una reacción negativa.

- **Ensayo de Benedict, para identificación de azúcares reductores.** A 1mL de filtrado del macerado, se adicionó 1mL de reactivo de Benedict, se sometió a baño maría por aproximadamente 5 minutos, no se observó la coloración verdosa por lo tanto prueba negativa.
- **Ensayo de Espuma, para identificación de saponinas.** Se tomó el filtrado del macerado y se adicionó agua destilada en una proporción de (1:9), se procedió a agitar vigorosamente, donde la presencia de espuma nos indicó prueba positiva.
- **Ensayo de Ninhidrina, para identificación de aminoácidos.** Se tomó 1mL del filtrado del macerado y se adicionó 1mL de ninhidrina, el cambio de coloración nos indicó prueba positiva.

3.4.1.4 Cromatografía en capa fina

Se realizó cromatografía en capa fina del extracto de "sanky", usando al ácido clorogénico como estándar, y como solvente el ácido acético : n-butanol : agua (10:40:50) usando al cloruro férrico como revelador, se sembró la muestra del extracto y del ácido clorogénico en la placa, se dejó la muestra por 8 horas, luego por capilaridad se observó el corrido de la muestra, al observar en el UV se pudo ver la presencia de ácidos fenólicos (Anexo N° 8). Se enriqueció con acetato de etilo y se llevó al espectro UV visible Genesys 6 para obtener su curva espectral.

3.4.1.5 Cuantificación de los compuestos fenólicos

Se prepararon diluciones de la muestra fresca y el extracto en 200 μ L, se añadió 1 mL del reactivo Folin – Ciocalteu diluido en agua destilada 1:10, después de 4 minutos se añadió 800 μ L de una solución saturada de carbonato de sodio (75g/L). Se dejó en reposo por 2 horas a temperatura ambiente y se midió la absorbancia 760 nm en un espectrofotómetro UV-Vis Genesys 6. El ácido clorogénico (0 -50 mg%) fue utilizado para preparar la curva de calibración de la curva de estándar, (Grafico N° 01), con un coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9977$. Los resultados son expresados como equivalentes del ácido clorogénico en porcentaje (Echevarria y Col., 2009)

3.5. Determinación de la actividad antioxidante por el método de captación del Radical Libre (DPPH)

Fundamento:

Uno de los métodos para determinar la capacidad antioxidante es aquel que emplea al radical libre DPPH, el cual por su estabilidad, es destruido solamente por antioxidantes, de tal manera que el mejor compuesto destructor del DPPH será el mejor antioxidante.

La técnica que emplea el DPPH que es un compuesto de color azul violeta, se basa en la desaparición de dicho color hacia el amarillo pálido por la reacción de la sustancia antioxidante, pudiendo cuantificarse la reacción espectrofotométricamente a 515 nm por diferencia de absorbancia con lo que se determina el porcentaje de inhibición del radical DPPH (Muedas, 2008).

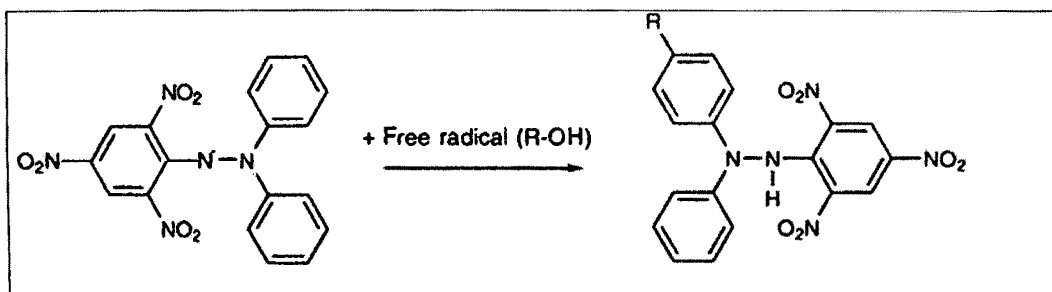


Figura N° 03. Reacción del DPPH con los antioxidantes (Muedas, 2008).

Los materiales que se utilizaron son:

- Una solución de DPPH de 20 ug/L.
- Extracto hidroalcohólico de la pulpa del fruto de, “sanky”, 300ug/mL (solución A)
- Un blanco de metanol: agua (2:1) para ajustar el espectrofotómetro a cero
- Un blanco de muestra con 0,75 mL de muestra (solución A) y 1,5 mL de metanol.
- Un patrón de referencia (estándar) con 1,5mL de DPPH y 0,75 mL de agua destilada

Procedimiento:

La muestra con 0,75 mL de solución A, se mezcla con 1,5 mL de DPPH para obtener una concentración final de 100 ug/mL, se deja reposar a temperatura ambiente por 5 minutos y luego se realizó la lectura a 515 nm en el espectrofotómetro.

La solución A (2), se diluye con metanol en una proporción de 1:2 (solución B) para obtener una concentración final de 50 ug/mL y luego en una proporción de 1:10 (solución C) para obtener una concentración final de 10 ug/mL.

Con las soluciones B y C se proceden igual que en caso anterior.

El estándar (vitamina C) se preparó al igual que la muestra, pero en cantidades y volúmenes menores: 3 mg/10 ml, 1,5 mg/10 ml y 0,3 mg/10 ml; los cuales se

enfrentaron a la solución DPPH (0,75 ml estándar con 1,5 ml DPPH), obteniéndose las concentraciones finales en la mezcla de 100 ug/ml, 50 ug/ml y 10 ug/ml, respectivamente.

El cálculo de la capacidad de decoloración de las muestras (capacidad antioxidante de radicales libres), se realizó empleando la siguiente fórmula

$$\% \text{ Inhibición R.L.} = \frac{[A_{\text{DPPH}} - (A_{\text{mp}} - A_{\text{bmp}})]}{[A_{\text{ref}}]} \times 100$$

Dónde:

R.L : Radicales libres.

Amp : Absorbancia de muestra problema.

Abmp: Absorbancia de blanco de muestra problema.

Adpsh : Absorbancia de la mezcla de DPPH.

3.6. Análisis de datos

Los datos se presentaron en cuadros y barras. Para la comparación de medias se realizó el análisis de varianza y la prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 95% de nivel de confianza.

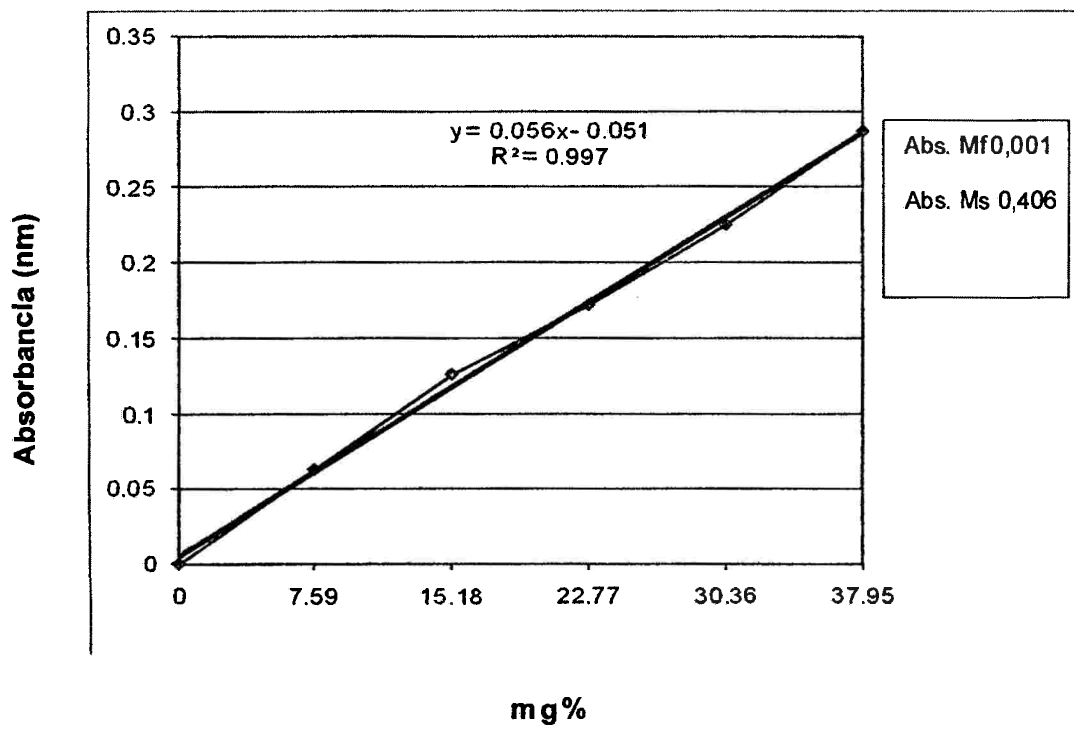
IV RESULTADOS

CUADRO N° 01: Metabolitos secundarios presentes del extracto hidroalcohólico de la pulpa del fruto de *Corryocactus brevistylus* (K. Schium, ex Vaupel) Briton & Rose, "sanky". Ayacucho, 2012.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYOS	RESULTADOS	OBSERVACIÓN
FENOLESY/O TANINOS	CLORURO FERRICO	+++	Coloración azulina
AMINOÁCIDOS	NINHIDRINA	++	El cambio de coloración
SAPONINAS	ESPUMA	++	Hay formación de espuma.

LEYENDA: (++) Buena (+++) Excelente (-) Mala

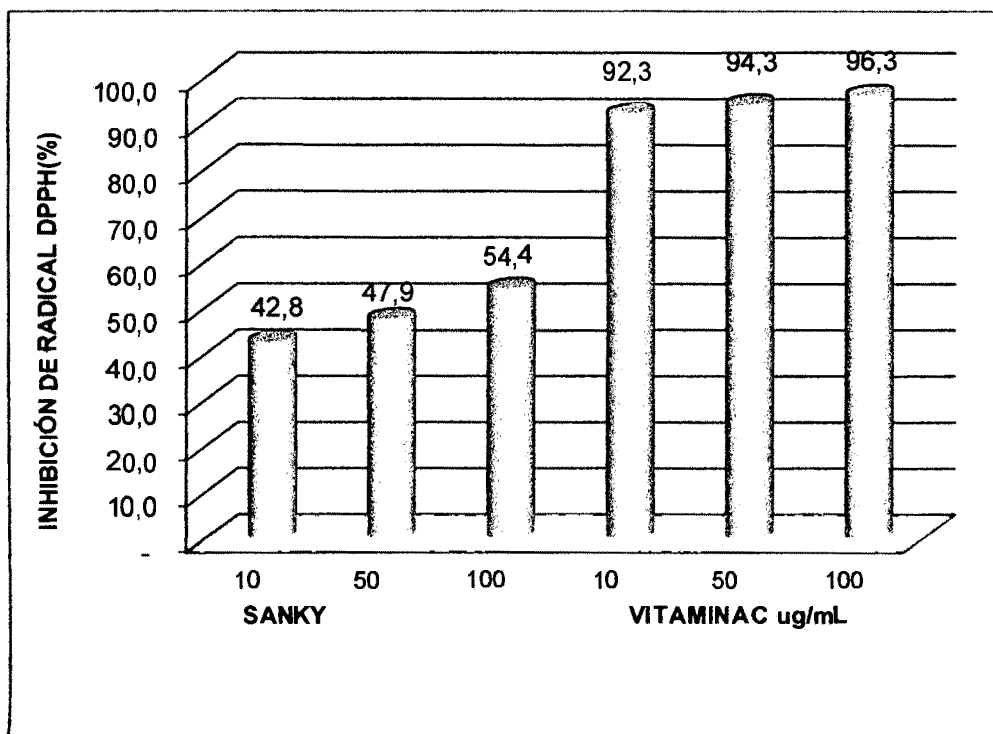
GRAFICO N°01. Curva de calibración del ácido clorogénico. Ayacucho 2012.



Cuadro N° 02. Contenido de compuestos fenólicos expresados como ácido clorogénico en el fruto de *Corryocactus brevistylus* (K Schium, ex Vaupel) Briton & Rose, "sanky".

Estado	Ácido clorogénico (mg/ %)
Fruto fresco	0,93
Fruto seco	8,16

GRÁFICO N° 02. Porcentajes de inhibición de captación de radicales libres del extracto hidroalcohólico de la pulpa del fruto de *Corryocactus brevistylus* (K. Schium, ex Vaupel) Briton & Rose, y de la vitamina C. Ayacucho. 2012.



V. DISCUSIÓN

Los radicales libres no solo pueden lesionar directamente los tejidos y producir disfunción orgánica, sino cada vez están más claros en los estudios *in vitro* que los radicales también pueden modificar el ADN y producir mutaciones que aumentan el potencial carcinogénico (Dreher y Junod, 1996).

Entre los procesos de enfermedades tenemos al envejecimiento, procesos broncopulmonares, cardiopatía isquémica, arteriosclerosis, artritis reumatoidea, enfermedades cardiovasculares, enfermedades degenerativas (Alzheimer, Parkinson), cataratas, ulceraciones gástricas, inflamación, promoción de tumor y cáncer. También está comprometida la diabetes y el SIDA que crea una sobreproducción de radicales libres que empeoran la evolución de la enfermedad (Angulo y Miguel, 1999).

Los ensayos farmacognósticos realizados para la identificación de los metabolitos secundarios revelaron la presencia de compuestos fenólicos, el cambio de coloración a verde oscura, determinó la reacción positiva, para la identificación de azúcares se observó en la cámara ultravioleta, la presencia de fluorescencia indicó la reacción positiva. Para la identificación de aminoácidos el cambio de coloración de azul a violeta indicó prueba positiva. El ensayo para saponinas

mostró la presencia de espuma por más de un minutos, en el extracto hidroalcohólico de *Corryocactus brevistylus* "sanky" (Cuadro N°01).

Los ácidos hidroxicinámicos son un grupo de compuestos presentes en la pared celular vegetal, cuyos principales representantes son el ácido ferúlico, p-cumárico, caféico y sinápico, de los cuales el ácido ferúlico y p-cumárico son los de mayor abundancia en la naturaleza. Están formados básicamente por un anillo aromático, un grupo alifático y un ácido carboxílico en el extremo. Son denominados hidroxicinámicos por la sustitución del grupo -OH en el anillo aromático (Yagy y Oishi, 1997). Según la bibliografía los compuestos fenólicos de las plantas son un grupo heterogéneo de productos con más de 10.000 compuestos. Estos compuestos han sido implicados en repetidas veces como antioxidantes, los cuales inhiben cerca del 80% de la formación de peróxido. Algunos son soluble en solventes orgánicos, otros son glucósidos o ácidos carboxílicos y por lo tanto solubles en agua, y otros son polímeros muy grandes e insoluble

En el Anexo N°03 se observar las absorbancias mínimas y máximas del extracto de *Corryocactus brevistylus* "sanky" se puede ver que a 227 nm se obtiene una absorbancia de 2,182; a 283 nm una absorbancia de 0,879 y a 441 nm una absorbancia de 0,051, se observa también los picos en la gráfica con lo cual nos indicaría la presencia de compuestos fenólicos en la muestra. Se realizó cromatografía en capa fina de los compuestos fenólicos aislados del extracto de *Corryocactus brevistylus* "sanky", usando al ácido clorogénico como estándar, y como solvente el ácido acético: n-butanol: agua (10:40:50) y como revelador al cloruro férrico; se observó en el UV la presencia de estos ácidos fenólicos (Anexo N°08), comparando la fluorescencia obtenida, con el trabajo realizado por

(Knezevic y Blazekovic, 2011). Titulado Actividad Antioxidante y Contenido Polifenólico de tres especies seleccionados de *Micromeria*, especies de Croacia, (Anexo N°09), se podría decir que los compuestos fenólicos presentes en el "sanky" podrán ser ácido caféico y el ácido ferúlico son los responsables de la actividad antioxidante del *Corryocactus brevistylus* "sanky".

Se realizó la curva de calibración en muestra deshidratada y muestra fresca de *Corryocactus brevistylus* "sanky" donde la absorbancia para para la muestra deshidratada fue de 0,406 y para la muestra fresca fue de 0,001, Para la muestra en estado fresco se obtuvo 0,93 mg/% y para la muestra seca 8,16 mg/%, de los resultados obtenidos podríamos decir que es mejor comer el fruto seco ya que de esta manera obtendríamos mejor actividad antioxidante que con el fruto fresco, porque la cantidad de agua presente en el fruto podría disminuir dicha actividad (Cuadro N°02).

El método utilizado para determinar la actividad antioxidante en el presente trabajo fue la decoloración del radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) (Anexo N°07).

En el Gráfico N° 02, se observó el porcentaje de inhibición por captación del radical libre (DPPH) por efecto del extracto hidroalcohólico de *Corryocactus brevistylus* (*K. Schium, ex Vaupel*) Briton & Rose, "sanky", la cual a una concentración de 100 ug/ml presentó un porcentaje de inhibición del radical libre de 54,60% de inhibición del radical DPPH, a la concentración de 50 ug/mL obtuvo un 48,09% de inhibición del radical DPPH. y a la concentración de 10 ug/mL alcanzó un 43,08% de inhibición del radical DPPH. Podemos observar que a mayor concentración de 100 ug/mL se obtuvo mayor captación de radicales DPPH comparado con la de 50 ug/mL y la de 10 ug/ml de

se analizó la capacidad antioxidante obteniendo los siguientes resultados de 266,32; 363,76 y 439,11 $\mu\text{g Trolox/g}$ muestra respectivamente. Con respecto a la extracción de fenoles, los factores más significativos fueron la temperatura y la concentración de etanol y la capacidad antioxidante está relacionada directamente del contenido de fenoles en la muestra. En nuestro trabajo los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición del radical libre DPPH.

En otros trabajos realizados sobre actividad antioxidante de algunas especies vegetales de la misma familia las Cactaceae tenemos; al realizado a la *Opuntia ficus indica* L. Mili. "tuna" del cual se obtuvo como resultado el porcentaje de inhibición del radical libre DPPH a una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ 42,53% (Ortiz, 2010). De los resultados podemos comentar que tanto el *Corryocactus brevistylus* "sanky" como la *Opuntia ficus indica* L. Mili. "tuna" presentaron a una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ un porcentaje de inhibición del radical libre DPPH cercano *Corryocactus brevistylus* "sanky" (54,60 %) y *Opuntia ficus indica* L. Mili. "tuna" (42,53%) no tan altos comparados con la vitamina C. Ambos resultados presentan una mediana actividad antioxidante pudiendo deberse este resultado a la cantidad de agua presente en ambas muestras, también podríamos asumir que el extracto usado podría haber influido en los porcentajes de captación de radicales libres DPPH como lo demuestra (Ramos y Col., 2008) donde comparó la actividad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas, usando diferentes extractos etanólicos al 10% y al 75%, evaluó la capacidad antioxidantes de nueve extractos de plantas medicinales entre ellas *Lepidium peruvianum* a 100 $\mu\text{g/mL}$ del extracto etanólico al 10% obtuvo 60,32% de captación de radical DPPH y *Lepidium meyenii* "maca" a 100 $\mu\text{g/mL}$ del extracto etanólico al 10% obtuvo 67,32% de captación de radical DPPH. Los resultados obtenidos con el extracto etanólico 80% a una concentración de 90 $\mu\text{g/mL}$ el

Lepidium meyenii "maca" captó en 75,0 % al radical DPPH. Podemos observar que el extracto etanólico usado influye directamente en la determinación de captación de captación de radical libres DPPH, en nuestro trabajo se utilizó extraco hidroalcohólico a una sola concentración.

Otro trabajo realizado fue acerca del estudio comparativo de las propiedades antioxidantes de dos ecotipos de *Corryocactus brevistylus* "sanky" las muestras fueron recolectadas en el Departamento de Moquegua (ecotipo pequeño) y el centro comercial Minka Lima (ecotipo grande). Existió una concentración de 48 mg de vitamina C/100g de ecotipo grande y 56 mg de vitamina C/100g de ecotipo pequeño (Palomino, 2011). La determinación del efecto antioxidante demostró que cuando se adiciona concentraciones crecientes de *Corryocactus brevistylus* "sanky" a un medio generador de radicales hidroxilo-constituido por ascorbato. Se observó incremento de radicales libres, comportamiento que fue lineal cuando se utilizó la muestra en cantidades comprendidas ambos ecotipos. Palomino utilizó un medio generador de radicales hidroxilos, para comparar la actividad antioxidante de dichos ecotipos, con lo cual demostró que el ecotipo pequeño presentó mayor actividad antioxidantes, en nuestro caso empleamos al radical libre DPPH, el cual por su estabilidad, es destruido solamente por antioxidantes, de tal manera que el mejor compuesto destructor del DPPH será el mejor antioxidante.

El análisis estadístico de los datos a un nivel de significancia del 0,05 demostró que por lo menos unos de los promedios de los porcentajes de captación de radicales libres es diferente del resto (puede ser que 2, 3 o todos sean diferentes). En este caso es $2,2 \times 10^{-17}$ es menor a 0,05 por lo tanto es significativo, al realizar la prueba de Duncan que son comparaciones múltiples

para hacer comparaciones de los promedios uno a uno, se observa que todos son diferentes no hay promedios repetidos.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de *Corryocactus brevistylus* (K. Schium, ex Vaupel) Briton & Rose, "sanky" muestra actividad antioxidante en una capacidad del 50% del DPPH, comparando con la vitamina C.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Corryocactus brevistylus* (K. Schium, ex Vaupel) Briton & Rose, "sanky" fueron los compuestos fenólicos, taninos, aminoácidos y saponinas
3. El *Corryocactus brevistylus* "sanky" a una concentración de 100 ug/mL posee una mediana actividad antioxidante de 54,60%, mientras que la vitamina C a la misma concentración presenta mayor inhibición del radical DPPH 96,31%.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda tratar la muestra inmediatamente, ya que algunos componentes volátiles se pierden en el proceso de preparación de los extractos a ensayar.
2. Realizar más pruebas farmacognósicas al *Coryocactus brevistylus* (K. Schium, ex Vaupel) Briton & Rose "sanky", para así determinar que metabolitos más se encuentran presentes en la muestra.
3. Realizar más estudios concernientes al tipo de extracción hidroalcohólica, con extractos alcohólicos al 50% y 60%.
4. Cuantificar la vitamina C presente en el *Coryocactus brevistylus* (K. Schium, ex Vaupel) Briton & Rose "sanky".

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Aguilar, E.** 2002. Farmacognosia I. Manual de Prácticas de Laboratorio. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Escuela de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho – Perú.
2. **Aguilar, E.** 2000. Determinación del efecto antioxidante de la *Oenhotera rosea*. Informe de investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho–Perú.
3. **Aldecoa, F.** 1995. Radicales libres, antioxidantes y cáncer. Revista Médica de la Fundación Instituto Hipólito Unanue. Diagnóstico. Vol.34 No 5 Set-Oct Lima- Perú.
4. **Angulo, P. y Miguel M.** 1999. "Radicales libres, estrés oxidativos y cáncer, rol de los productos naturales. Curso Biología Molecular, Radicales Libres y estrés oxidativo. Ayacucho 06 y 07 de julio del 2010.
5. **Bautista, W.** 2002. Determinación de la actividad antioxidante por captación de radicales libres en extractos de *Solanum radicans L.f* "ñuchku", *Ligaria cuneifolia* "tullma" y *Lavatera arborea L* "malva".Tesis para optar el Título profesional de Químico Farmacéutico. UNSCH. Ayacucho – Perú
6. **Barquínero, J.** 1992. Radicales Libres, los enemigos más diminutos, En: GSH system Glutation: Eje de la Defensa Antioxidante. Excerpta Medica, Amsterdam -Holanda.
7. **Casanova, G.** 2004. Actividad antioxidante y anti ulcerosa del extracto acuoso liofilizado de *Calceolaria cuneiformes R.p. Sub sp. Cuneiformes* "ayapata zapatum". Tesis para optar el Título profesional de Químico Farmacéutica. UNSCH. Ayacucho - Perú.

8. **Cruz, F.** 2012. Frutas medicinales andinas; agencia agraria de noticias Lima Perú 2012. URL. <http://www.agraria.pe/noticias/exportan-productos-base-de-sanky>
9. **Cornejo, V.**1987. "Plantas Medicinales y su Utilización". Facultad de Ciencias. Área de la Botánica de U.N.S.C.H. Ayacucho- Perú.
10. **Coto, C.** 2012., Curvas Patron, capitulo N°3, Revista Electrónica del Dpto. de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina. 2012. URL: <http://www.quimicaviva@gb.fcen.uba.ar>.
11. **Chávez, R. y Plaza, A. y Lock, O.** 1996. Antioxidante de Origen Vegetal Revista de Química. Vol. X N° 1. Publicada por el Departamento de Ciencias de la Universidad Católica del Perú.
12. **Dreher, D. y Junod, A.** 1996. "Role of oxygen free radical in cancer development (Rew). Eur. J. Cancer. Canada. in PubMed, Jan ; 32.
13. **Echavarría, V. Franco, A. Martínez, A.** 2009. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe Colombiano; Vol.16 N°1, Medellín Colombia
14. **Fito,** 2002. Fitoterapia y Envejecimiento. Segundo Curso Internacional de Plantas Medicinales y Fitoterapia Lima - Perú.
15. **Flores, J.** 1997. Farmacología Humana segunda Edición. Editorial Científica y Técnicas S.A. España
16. **Faúndez, L.** 2010. Extension de la presencia de *Corryocactus brevistylus*, ejecutada por biota gestión y consultorias, Ministerio de Medio Ambiente de Chile 2010, URL.

http://www.mma.gob.cl/clasificacionespecies/fichas8proceso/fichas_pac/Corryocactus_brevistylus_corregida.pdf

17. **Guija, E. y Troncoso, L.** 2000. Radicales Libres y Envejecimiento. Boletín de la Sociedad Química del Perú. Volumen LXVI-Marzo. Facultad de Medicina. UNMSM. Lima.
18. **Huertas, E. y Condor Y,** 2012. Gaceta molinera, Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima 22 de octubre 2012.
URL: <http://www.lamolina.edu.pe/gaceta/edicion2006/notas/nota153.htm>
19. **Halliwell, B.** 1996. Antioxidantes en humanos, enfermedad y salud Rev. Nut. 16.
20. **Humberman, A.** 1996. "La importancia médica de los radicales libres de oxígeno". En: Gaceta Médica de México. Órgano Oficial de la Academia Nacional de Medicina. Volumen 132 Número 02. Editorial Láser S.A. México.
21. **Knezevic, S. y Blazekovic, B.** 2011. Antioxidant Activities and Polyphenolic Contents of Three Selected *Micromeria* Species from Croatia. Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, Croatia, URL: www.mdpi.com/journal/molecules.
22. **Ku, A.** 1997. Enfermedades producidas por los radicales libres. Revista Panamericana de la Salud Vol. 1 N° 5.
23. **Litter, M.** 1998. Compendio de Farmacología. Editorial el ateneo. 4ta Edición. Buenos Aires – Argentina.

24. **Lock De Ugaz, O.** 1996. Investigación fotoquímica – Metodológica en el estudio de productos naturales. Segunda Edición. Edit. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima-Perú.
25. **Matos, C y Paredes, R. y Gonzales, L.** 2010. Determinación de la capacidad Antioxidante de los compuestos Fenólicos del Sancayo (*Corryocactus Brevistylus*). Revista de investigación en ciencia y tecnología de alimentos Perú. URL <http://papiros.upeu.edu.pe/handle/123456789/224>.
26. **Mc-Gilvery, R. y Col.** 1996. Bioquímica-Aplicaciones Clínicas, Tercera Edición. Edit. Interamericana S.A. México.
27. **Miranda, M. y Cuellar, A.** 2000. Manual de Prácticas de Laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales; Ciudad Habana.
28. **Montero, M.** 1996. Los Radicales Libres y las defensas antioxidantes. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Santiago de Compostela. Rev. Anuales de la Facultad de Medicina, España.
29. **Muedas, G. y La Rosa, A.** 2008. Evaluación electroquímica de la actividad antioxidantes del extracto alcohólico de la *Bauhinia guianensis* var. *kuntiana* Aubl, Revista de la sociedad Química del Perú.
30. **Murray, R.; Mayes, P.; Granner, D. y Rodwell, P.** 1994. Bioquímica de Harper. 13va Edición. Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. Impreso en los Talleres de Fuentes Impresoras S.A. – México.
31. **Ortiz, M.** 2010. Extracción de betalainas de actividad antioxidante de raíz de *Beta vulgaris* "betarraga" fruto de *Opuntia ficus indica* "tuna" y flores de *Amaranthus caudatus* "kiwicha". Ayacucho 2010.

32. **Palomino, M.** 2011. Estudio Comparativo de las propiedades antioxidantes de dos ecotipos de *Corryocactus brevistylus* (sanky) Departamento Académico de Ciencias Dinámicas, Facultad de medicina de la UNMS URL.http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/anales/v72_sup/pdf/a02v72sup.pdf.
33. **Paredes, F. y Roca, J.** 2002. influencia de los radicales libres en el envejecimiento celular, OFFARM. Vol 21 N° 7 Julio- Agosto 2002 URL.: <http://www.doymafarma.com>.
34. **Quispe, C.** 2004. Evaluación de la actividad antioxidante por captación de radicales libres del extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* "romero". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico de la UNSCH, Ayacucho – Perú.
35. **Ramírez, E. y Ñaccha, J.** 2002. Evaluación del poder antioxidante por captura de radicales libres de la *Uncaria tomentosa* (Wild) D.C. "uña de gato", frente a *Baccharis salicifolia* "chilco" y *Lepechinia meyenii* "puna salvia". UNSCH. Ayacucho - Perú.
36. **Ramos, E. y Castañeda, B. e Ibañez L.** 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de las plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. Lima-Perú. Revista Académica Perú Salud.
37. **Robbins, S.** 2000. Tratado de Patología Estructural y Funcional. Sexta Edición. Editorial Mc Graw – Hill. Interamericana Editores S.A. México.
38. **Sies, H.** 1991. Oxidate stress: oxidants and antioxidants. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. London – Canada.
39. **Sumari, P.** 2003. Evaluación de la capacidad de la actividad antioxidante de la parte comestible del fruto de *Opuntia ficus indica* "tuna", *Opuntia*

Soherenssi "ayrampo", *Annona cherimolia* "chirimoya", *Lucuma ovobata* "lúcuma", *Physalis peruviana* "capull". Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho.

40. Villar, M. y Villavicencio, O. 1992. Uso de las plantas medicinales; Boletín de la Sociedad Peruana de Medicina Interna volumen 5 N°4 pág. 16 Lima 1992.
41. Yagi, K. y Oishi, N. 1997. Campesterol ferulic acid ester, 21-methylenecycloartanol ferulic acid ester and cycloartenol ferulic acid ester. *Nutr. Vitaminol.* 25, 127-130.
42. Wolf, S. 1991. "Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing". *Free Radic Biol. Med.* 10(5): 339-52 URL. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/089158499190040A>.

ANEXOS

ANEXO N° 01. Certificado emitido por el Herbarium Huamangensis de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga el cual acredita la clasificación taxonómica del *Corryocactus brevistylus* (K. Schium, ex Vaupel) Briton & Rose, "sanky" Ayacucho 2012



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


C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta., **Glagys Rosario, ARIMANA TITO**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis. Dicha muestra ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	:	CARYOPHYLALES
FAMILIA	:	CACTACEAE
GENERO	:	<i>Corryocactus</i>
ESPECIE	:	<i>Corryocactus brevistylus</i> (K. Schium, ex Vaupel) Briton & Rose.
SINONIMIA	:	<i>Cereus brevistylus</i> K. Sechum.
N.V.	:	"sanky"

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

Ayacucho, 06 de Setiembre del 2011

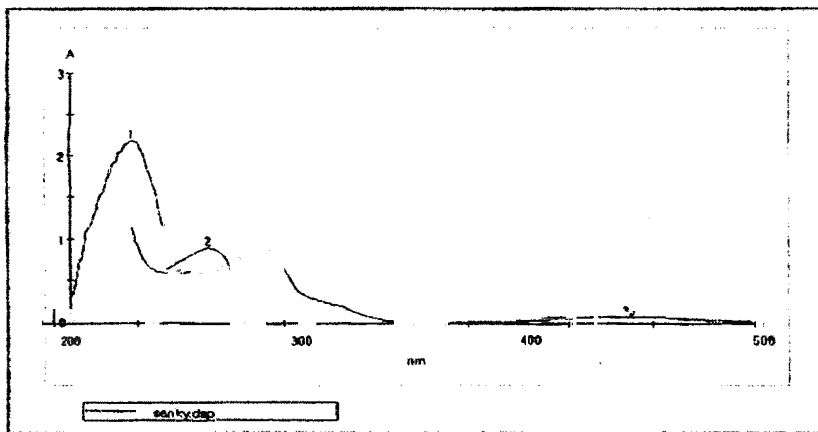
UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Herbarium Huamangensis

Dña. Laura Arcobende Saldana
Jefe

ANEXO N° 02. Flujograma del tamizaje fitoquímico de *Corryocactus brevistylus*
(K. Schium, ex Vaupel) Briton & Rose, "sanky" Ayacucho 2012



ANEXO N° 03. Curva Espectral de la fracción del Acetato de Etilo del fruto de *Coryocactus brevistylus* (K. Schium, ex Vaupel) "sanky" Ayacucho 2012

Spectrum: sanky.dep
Description:
Operator: user/FARMA COGNOSTA
Created: 26/06/2012 12:57:44 p.m.
Spectrophotometer: GENESIS 5
Serial number: 2468070001
Firmware: 1.200



sanky.dep

Maxima Threshold: 0.01 A
1 227 nm; 2.182 A 2 283 nm; 0.879 A 3 441 nm; 0.051 A

ANEXO N° 04. Resultados de comparaciones múltiples de Duncan de los porcentajes de los tratamientos de la captación de los radicales libres.

Tratamiento	N	Subgrupo para $p = 0.05$					
		1	2	3	4	5	6
10 ug/mL	3	43,08					
50 ug/mL	3		48,09				
100 ug/mL	3			54,60			
10 ug/mL Vitamina C	3				92,36		
50 ug/mL Vitamina C	3					94,18	
100 ug/mL Vitamina C	3						96,31
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

ANEXO N° 05. Resultados del análisis de varianza de los porcentajes de los promedios de la captación de los radicales libres de *Corryocactus brevistylus* (K. Schium, ex Vaupel) "sanky".

Tratamientos	Suma de cuadrados	d.f.	Media de cuadrados	F	Sig.
Entre grupos	9617,82	5	1923,56	2231,60	2,2 x 10 ⁻¹⁷
Dentro de grupos	10,34	12	,86		
Total	9628,16	17			

ANEXO N° 06. Planta y fruto del *Corryocactus brevistylus* (K. Schium, ex Vaupel) Briton & Rose, "sanky" del distrito de Quito Arma, provincia de Huaytara, departamento de Huancavelica- 2012



ANEXO N° 07. Captación de radicales libres por la muestra de “sanky”.
Ayacucho – 2012.



DPPH

DPPH Reducido

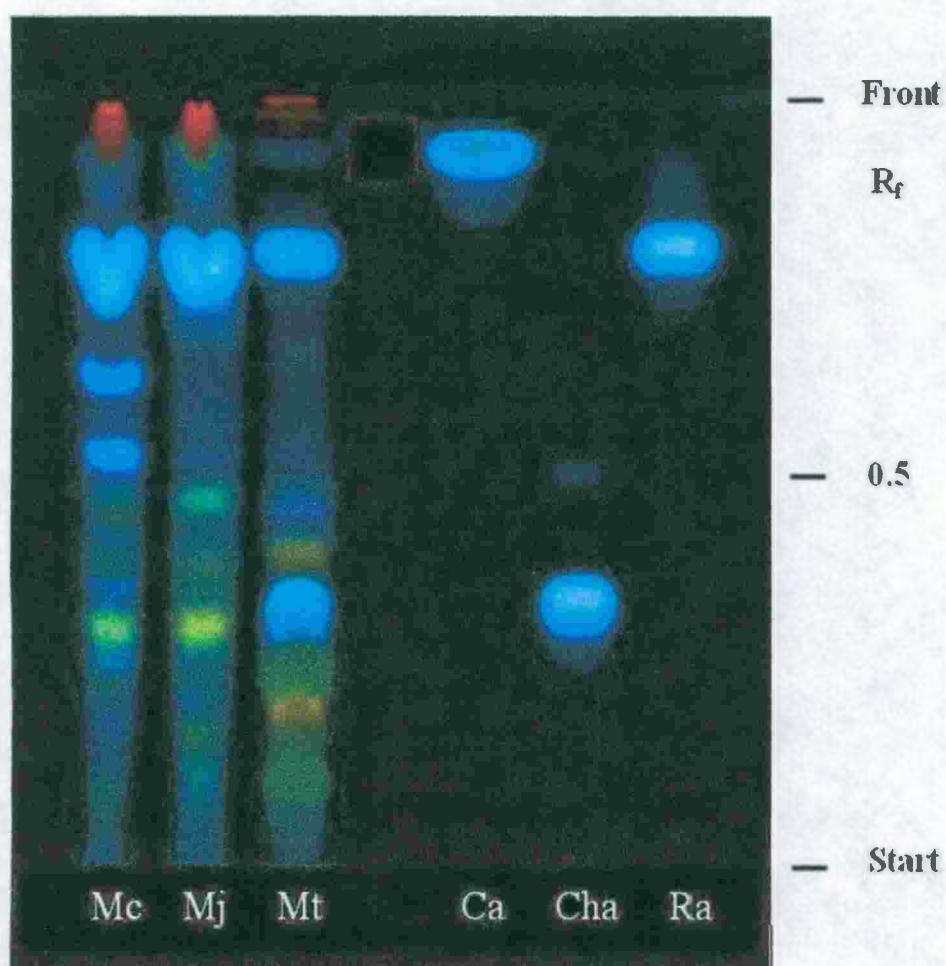
ANEXO N° 08. Observación en la cámara de luz UV del extracto de *Corryocactus brevistylus* (K. Schium, ex Vaupel) Briton & Rose, "sanky" y del Ácido Clorogénico. Ayacucho – 2012.



Extracto

Ac. clorogenico

ANEXO N° 09. Cromatografía de actividad antioxidante y contenido Polifenólico de Tres especies *Seleccionado* de *Micromeria* Especies de Croacia; Ca-ácido cafeico, Cha- ácido clorogenico (Knezevic, S y Blazekovic, B. 2011).



ANEXO N° 10. Lectura de las absorbancias en el espectrofotómetro UV Genesys 6. Laboratorio de Farmacia de la Universidad Nacional San Cristobal de Huamanga. Ayacucho – 2012.

