

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



Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos
aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC.
"usón". Ayacucho – 2011

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

PRESENTADO POR
Bach. Janeth, CÁRDENAS LAGOS

AYACUCHO - PERÚ
2012

*A Dios y a mis queridos ángeles Nelson Raúl,
Richman y Yuri que siem pre vivirán en mi
corazón y Con amor a mis adorados padres
por su incansable esfuerzo y a mis hermanos
por existir en mi vida.*

AGRADECIMIENTO

Agradecimiento especial a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; por acogerme en sus claustros durante los años de mi formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica y a todos los docentes por su invaluable contribución académica.

A mis asesores Dr. Q.F. ENCISO ROCA Edwin Carlos, Mg. Q.F. AGUILAR FELICES, Enrique Javier por el apoyo en el presente trabajo de investigación, compartiendo sus conocimientos y orientaciones que hicieron posible el desarrollo y culminación de esta investigación.

A todas aquellas personas que influyeron en el desarrollo y culminación del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE

| | | |
|--------|--|----|
| | RESÚMEN | v |
| I. | INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. | MARCO TEÓRICO | 4 |
| 2.1. | Antecedentes | 4 |
| 2.2. | Aspectos botánicos | 6 |
| 2.3. | Metabolitos secundarios con actividad antioxidante | 8 |
| 2.3.1. | Compuestos fenólicos | 8 |
| 2.3.2. | Azúcares o sacáridos | 13 |
| 2.4. | Antioxidantes | 13 |
| 2.5. | Vitamina C | 16 |
| 2.6. | Radicales Libres | 17 |
| III. | MATERIALES Y MÉTODOS | 20 |
| 3.1. | Ubicación | 20 |
| 3.2. | Materiales | 20 |
| 3.3. | Diseño metodológico | 21 |
| 3.3.1. | Procedimiento para la recolección de la muestra | 21 |
| 3.3.2. | Preparación del extracto | 21 |
| 3.3.3. | Ensayo fitoquímico cualitativo | 21 |
| 3.3.4. | Técnica de extracción de los compuestos fenólicos | 22 |
| 3.4. | Determinación de la actividad antioxidante | 23 |
| 3.5. | Análisis de datos | 24 |
| IV. | RESULTADOS | 25 |
| V. | DISCUSIÓN | 29 |
| VI. | CONCLUSIONES | 35 |
| VII. | RECOMENDACIONES | 36 |
| VIII. | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 37 |
| | ANEXOS | |

Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón". Ayacucho – 2011.

Autor : Bach: CÁRDENAS LAGOS, Janeth

Asesores : Dr. Q.F. ENCISO ROCA, Edwin Carlos

: Mg. Q.F. AGUILAR FELICES, Enrique Javier

RESÚMEN

El presente trabajo de investigación se desarrolló con la finalidad de evaluar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón" en los Laboratorios del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, de Setiembre del 2011 a Enero del 2012. Los frutos fueron recolectados en el distrito de Samugari – Palmapampa, de la provincia de La Mar – Ayacucho, los metabolitos secundarios fueron determinados mediante reacciones de coloración y precipitación, los compuestos fenólicos fueron aislados con acetato de etilo y la actividad antioxidante fue determinado mediante la prueba de captación del radical libre 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH). En el fruto se reportó la presencia de taninos y fenoles, lactonas y/o cumarinas, quinonas, catequinas, aminoácidos y azúcares reductores. Los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón" muestran mayor captación de radical libre a 10 µg/mL (62.94%), 50 µg/mL (65.57%), 100 µg/mL (68.74%); el extracto etanólico a 10 µg/mL (53.48%), 50 µg/mL (57.45%), 100 µg/mL (59.34%), los estándares: vitamina C a 100 µg/mL (97.5%) y el ácido tánico a 100 µg/mL (91.7%). Los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón" tienen actividad antioxidante.

Palabras clave: *Bunchosia armeniaca*; actividad antioxidante.

I. INTRODUCCIÓN

La amplia y variada flora peruana es y seguirá siendo uno de los recursos naturales más importantes, sobre todo por su aplicación en el campo de la medicina, debido a ello se ha incrementado el interés por el estudio científico de las plantas, por lo cual surgen una serie de trabajos de investigación encaminados a demostrar las propiedades medicinales de las plantas y a la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos (Brack, 1999).

Las plantas contienen compuestos polifenólicos con efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antiulcerosos, antimicrobianos, antihepatotóxica y antihipertensivos.

Bunchosia ameniaca (Cav.) DC. "usón" o también conocida como "ciruelo de fraile", pertenece a la familia de las Malpighiaceae, es una planta nativa del Perú, crece en zonas húmedas y actualmente es cultivada ya que el fruto es comestible y terapéutica (Towle, 2007).

Los recursos vegetales constituyen una buena fuente de sustancias con propiedades antioxidantes, en las que podemos citar a la vitamina C, los compuestos fenólicos, los flavonoides, los taninos y otros compuestos químicos de naturaleza análoga.

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 la población se relaciona con el adecuado balance oxidativo; es decir que los radicales libres y antioxidantes estén en equilibrio de modo tal que se minimice el daño celular y se retarde la aparición de enfermedades (Goodman y Gilman, 1998). Los radicales libres se han popularizado en los últimos años tomándose gran interés e importancia debido a que se comprobó su participación en el estrés oxidativo y a su vez en diversas fisiopatologías del organismo. La generación de radicales libres de oxígeno es un atributo de la vida aerobia normal. El oxígeno molecular puede ser reducido a agua, pero los pasos intermedios lleva a la formación de anión Superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH^{\cdot}), los cuales en cantidades moderadas tiene la finalidad de luchar contra bacterias y virus; sin embargo, en determinadas circunstancias la producción de radicales libres puede aumentar en forma descontrolada, produciéndose el estrés oxidativo, que están relacionado con el origen de numerosas enfermedades (Knigh, 1995).

Los radicales libres están presentes en muchas enfermedades como: procesos inflamatorios crónicos (artritis reumatoidea), hipertensión arterial, diabetes y cáncer, por lo tanto existe la necesidad urgente de buscar especies vegetales con la finalidad de neutralizar los efectos de dicha sustancia (Suarez y Oré, 1999).

Por estas consideraciones y con el propósito de contribuir al conocimiento de las bondades que nos ofrece nuestra flora peruana, se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General

- Evaluar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón".

Objetivos Específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón".
- Aislar los compuestos fenólicos del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón".
- Comparar la actividad antioxidante del extracto etanólico y de los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

En el Perú, las plantas se aprovechan desde hace siglos, durante muchos años los investigadores han estudiado las propiedades de las diversas especies vegetales y han descubierto diversas posibilidades uno de ellos se encuentra en sus propiedades medicinales (Rodríguez, 2002).

Es así que en las últimas décadas se ha despertado el interés por el estudio fitoquímico de los antioxidantes y en la base al conocimiento científico se va logrando la validez del uso tradicional de los mismos; y al menos en estos días se está dando mayor interés al estudio de plantas con diferentes actividades farmacológicas.

Se realizó estudios sobre la actividad antiulcerosa del extracto hidroalcohólico de los frutos de *Bunchosia armeniaca* "usón" (Chavarría, 2011). Demostrando que el extracto hidroalcohólico de los frutos de *Bunchosia armeniaca* "usón" poseen actividad antiulcerosa también posee taninos y fenoles, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, quinonas, catequinas, aminoácidos y azúcares reductores.

En un estudio realizado en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Post Grado sobre la especie *Luma chequen* perteneciente al orden Magnoliopsida titulado: Estudio de la

composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "arrayán". Demostraron que el aceite esencial de *Luma chequen* presenta actividad antioxidante en el modelo del radical DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo) comparado con la vitamina C. Observándose que de 10 y 50 µg/mL presentan diferencias en su capacidad de captación de radical DPPH, donde la vitamina C tiene mayor capacidad captadora en ambas concentraciones. En 100 µg/mL el aceite y la vitamina C, tienen similar capacidad de captación de radical DPPH, esto estaría indicando que cuanto mayor es la concentración del aceite esencial de "arrayán", tiene mayor potencia antioxidante (Carhuapoma, 2006).

Se realizó un trabajo con la especie de *Byrsonima crassa Niedenzu* perteneciente a la familia Malpighiaceae, que es utilizada en la medicina popular de Brasil para el tratamiento de las úlceras gástricas, en el cual demostraron que el extracto metanólico de las hojas de *Byrsonima crassa Niedenzu*, administrado por vía oral en ratones tuvo mayor actividad gastroprotectora que el extracto clorofórmico de las hojas de *Byrsonima crassa Niedenzu* pues el extracto metanólico redujo significativamente las lesiones gástricas en un 74, 78 y 92% en dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg; la acción gastroprotectora mas baja (69%) se observó cuando los animales fueron tratados con extracto metanólico a la dosis de 1000 mg/kg. En la investigación fitoquímica de *Byrsonima crassa Niedenzu* también se demostró que posee cinco sustancias conocidas: la Quercetina-3-O-β-D-galactopiranosido, Quercetina-3-O-α-L-arabinopyranoside, el amentoflavona biflavone, catequina y epicatequina. La presencia de éstos compuestos fenólicos probablemente puede explicar el efecto gastroprotector del extracto de hojas de *Byrsonima crassa Niedenzu* (Sannomiya y col., 2005).

2.2. ASPECTOS BOTÁNICOS DE *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. “usón”

2.2.1. Clasificación sistemática

La determinación botánica se realizó según el sistema de clasificación de CRONQUIST, A. (1988) y es como sigue:

| | | |
|---------------------|---|---|
| DIVISIÓN | : | MAGNOLIOPHYTA |
| CLASE | : | MAGNOLIOPSIDA |
| SUBCLASE | : | ROSIDAE |
| ORDEN | : | POLYGALALES |
| FAMILIA | : | MALPIGHIACEAE |
| GÉNERO | : | Bunchosia |
| ESPECIE | : | <i>Bunchosia armeniaca</i> (Cav.) DC. |
| NOMBRE COMÚN | : | usón, ciruelo verde, ciruelo de fraile |

Fuente: Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga (Anexo N° 1).

2.2.2. Características botánicas

Bunchosia armeniaca, es un arbusto, bastante frondoso y ramificado. Las hojas son simples, de disposición opuesta, poco pecioladas, pueden llegar a medir hasta 20 cm de longitud y el ancho hasta los 12 cm, nervios primarios ascendentes, y ápice abrupto o tenuemente acuminado; la lámina foliar tiene sendas glándulas basales. El pecíolo es corto, mide de 0.5 a 1.5 cm de largo, ápice acuminado de bordes poco pestoneados, de nervaduras pinnadas (punta) con escasos pelos. La inflorescencia está formada por racimos axilares con 1 ó 2 racimos de menor tamaño que las hojas correspondientes o tan largas como ellas; eje verde, las flores presentan una corola de 5 pétalos amarillos. Los frutos son ovoides o globosos, de color anaranjado o rojo cuando están maduros y miden de 2 a 4 cm de longitud por 1 a 3 cm de

ancho, la pulpa es dulce, agradable, contiene de 1 a 2 semillas ovoides o globosas, un poco menores que el fruto, de testa fibrosa y se propaga por las semillas (Aucasime, 2011).

2.2.3. Hábitat y distribución geográfica

***Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC.** Es una especie nativa del Marañón, de la zona del bosque, que se encontró en estado silvestre en el valle del Uctubamba, cerca a la localidad de Leimebamba, en Chachapoyas. Esta planta debe propagarse por la calidad y productividad de sus frutos, de fácil adaptación a los factores bioclimáticos no solo de la ceja de selva sino también de la costa (Miró, 1998).

Se extiende desde las costas del Caribe, al Sur del Ecuador y hasta la parte alta de la Cuenca Amazónica (Mostacero y Mejía, 1993).

2.2.4. Aspectos farmacológicos y químicos de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. “usón”

2.2.4.1. Usos, preparación en la medicina tradicional peruana

Se utiliza en la alimentación el fruto maduro en forma directa o en jugos (sabor acidulado y muy agradable), en medicina contra la diarrea (té del fruto) y ornamental (Brack, 1999).

El fruto es comestible, refrigerante y antiséptico (Mostacero y Mejía, 1993). La pulpa de la fruta es comestible. Los datos de etiqueta con las colecciones de tal especie con frecuencia se refieren a la comestibilidad de la fruta, implicando que la gente los come por accidente, pero ninguna especie alguna vez ha sido explotada comercialmente. Llamamos a la especie con frutas comestibles: “ciruela”, “ciruela de fraile” y “ciruela de montaña” en países de habla española y “marmelo” en Brasil.

2.2.4.2. Composición química

No se reportan estudios de composición química ni elucidación estructural de sus metabolitos.

2.3. METABOLITOS SECUNDARIOS RELACIONADOS CON LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

2.3.1. Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos están en la naturaleza ampliamente distribuidos en el reino vegetal, todos ellos presentan un anillo aromático común (figura 1) que puede estar unido a grupos hidroxilos libres y combinados en forma de éster, éter, heterósidos, etc., la formación de este núcleo aromático se realiza por vegetales y microorganismos. Mientras que su presencia en animales se debe a la ingesta del vegetal (Villar del Fresno, 1999).

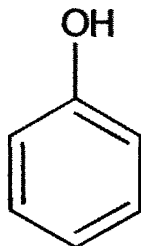


Figura 1. Fenol

2.3.1.1. Actividad biológica de los compuestos fenólicos

Los polifenoles poseen acciones antihelmínticas, antihepatotóxicas, antiinflamatorias, antidiarreicos, antiulcerosas, antivirales, antialérgicas y vasodilatadoras. Se ha verificado que inhiben la replicación del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) y del virus simplex humano (HSV), inhiben las glucosil transferasas del *Strepto-coccus mutans* (caries dental), también inhiben efectos citotóxicos, la promoción del crecimiento tumoral. Actividad antioxidante de los fenoles es el origen de funciones biológicas tales como la

antimutagénica, anticancerígena y antienviecimiento (Velioğlu y col, 1998; Proestos y col, 2005).

a. Fenoles simples

Los fenoles simples como el catecol (figura 2), guaiacol, floroglusinol, etc. son poco frecuentes en la naturaleza, a excepción de los derivados quinónicos hidroxilados presentes en algunas familias (Rosáceas, Ericáceas, etc.) generalmente en forma de glucósido (Villar del Fresno, 1999).

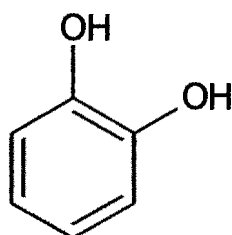


Figura 2. Catecol

b. Ácidos fenoles

Bajo este término se engloba a todos los compuestos orgánicos que tienen al menos una función carboxílica y un grupo hidroxilo fenólico; sin embargo, en la práctica habitual esta denominación queda reservada para derivados del ácido benzoico ($C_6- C_1$) (Figura 3) y del ácido cinámico ($C_6- C_3$) (Figura 4).

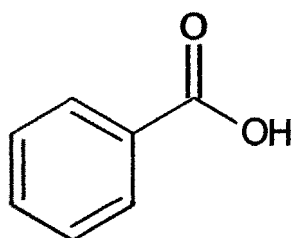


Figura 3. Ácido benzoico

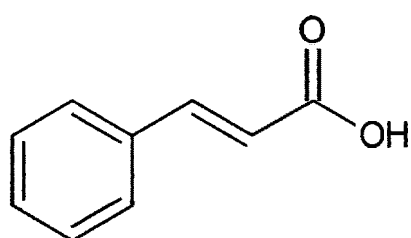


Figura 4. Ácido cinámico

c. Cumarinas

Son derivados de la benzo- α -pirona, como la cumarina, esculetina, umbeliferona y escopoletina, son comunes en las plantas, tanto en estado libre como en el de heterósidos. No todos son fenólicos, pero se estima conveniente incluirlos aquí entre los derivados fenólicos. La cumarina se ha encontrado en unas 150 especies, que se distribuyen en más de 30 familias diferentes (Evans, 1991).

Las cumarinas libres son solubles en alcohol, en otros disolventes orgánicos, como el éter etílico, así como en disolventes clorados, con los cuales se puede extraer (Villar del Fresno, 1999).

d. Taninos

Los taninos son compuestos fenólicos que abundan en muchas plantas y frutos. Son hidrosolubles. Su composición química es variable pero poseen una característica en común, la de ser astringente y coagular los alcaloides, albúminas y metales pesados. Son polvos amorfos de color amarillento, aspecto grasiento, poco denso, solubles en agua y alcohol, e insoluble en éter, benceno y cloroformo; cuando se calienta a 210 °C, se descomponen produciendo dióxido de carbono y pirogalol. Entre sus propiedades destaca su capacidad de formar complejos con varias sustancias, pero además su actividad antioxidante, se fundamenta en la captura de radicales libres, constituye una de las actividades farmacológicas. Los taninos han sido utilizados desde la antigüedad por sus propiedades astringentes en uso interno y externo, propiedad ligada a la unión de las proteínas en la piel y las mucosas formando una especie de curtido que hace que las capas más superficiales sean menos permeables y protejan a las capas subyacentes, por eso es utilizada también en los casos de quemaduras y como cicatrizante. En uso interno son antidiarreicos, disminuyen el peristaltismo, y son antisépticas.

Muchas de estas propiedades se relacionan con su actividad antioxidante y la captura de radicales libres, mediante el estudio de inhibición de la peroxidación de los lípidos en mitocondrias o microsomas en el hígado de los ratones estudiados (Villar de Fresno, 1999).

d.1. Taninos hidrolizables

Pueden ser hidrolizados por ácidos o enzimas, como la tanasa. Están formados por varias moléculas de ácidos fenólicos, como el gálico y el elágico, que se unen por enlace éster a un núcleo central de glucosa (Evans, 1991).

d.2. Taninos condensados

Estos comprenden todos los restantes taninos verdaderos. Sus moléculas son más resistentes a la ruptura que las de los taninos hidrolizables y parecen ser intermediarios en su biosíntesis, las catequinas y las flavan-3,4-dioles están, por tanto, relacionados con los pigmentos flavonoides (Evans, 1991).

El aislamiento de taninos puros ha permitido ensayar otras reacciones farmacológicas. Muchas de ellas se relacionan con su actividad antioxidante y la captura de radicales libres que han sido investigados en varios sistemas experimentales (Kuklinski, 2000).

e. Flavonoides

Los flavonoides son compuestos fenólicos ampliamente distribuidos en los vegetales. Pueden aparecer desde simples moléculas fenólicas hasta polímeros con pesos moleculares superiores a los 30 000 Da. Son responsables de las coloraciones de las plantas, la mayoría de ellos presentan actividades biológicas muy importantes. Se conocen más de 5 000 estructuras diferentes y están presentes en frutas y vegetales, así como en alimentos y bebidas obtenidos a partir de plantas como el aceite de oliva, el té y el vino tinto (Hertog y col., 1994).

Son compuestos fenólicos, responsables de la coloración de flores y frutos, por lo tanto "guías de néctar". Tiene como núcleo básico al 2 – fenil cromano. Farmacológicamente son antioxidantes (por quelación de metales, acción antiespasmódica, antiinflamatoria, anticoagulante indirecto de la sangre, acción diurética, antiedematoso, hipocolesterolemizante (Bruneton, 1991).

Sus propiedades farmacológicas están ampliamente difundidas ya sean estas antioxidantes, anticarcinogénicas.

Los flavonoides, en general, poseen capacidad para neutralizar radicales libres, responsables, cuando están dotados de un grado de reactividad, en la aparición de algunas patologías. Esta actividad antirradicalaria es en algunos casos, heterogénea en relación a los distintos tipos de radicales libres (anión Superóxido, radical hidroxilo, etc.). Muchos flavonoides interaccionan in vivo con el radical libre estable 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), lo que se utiliza para poner de manifiesto su actividad antirradicalaria. La capacidad de los flavonoides para prevenir la oxidación del ácido ascórbico es un hecho reconocido en la protección de esta vitamina en los zumos frescos de las frutas. Por lo que podemos considerar que presenta una actividad antioxidante (Villar de Fresno, 1999).

2.3.2. Azúcares o Sacáridos

Son carbohidratos que se clasifican de acuerdo al número de carbonos que conforman el compuesto, éstos son monosacáridos, di – tri – y tetrasacáridos.

a. Los azúcares reductores

Son todos los monosacáridos, y muchos disacáridos (como lactosa, maltosa, celobiosa y gentiobiosa).

b. Los azúcares no reductores

Algunos son disacáridos (sacarosa, trealosa, ésta última encontrada en algunos hongos). Los glucósidos no reductores se pueden convertir en azúcares reductores por ebullición con ácidos, pero se recuerda que ha de

neutralizarse el ácido para la hidrólisis antes del ensayo con fehling, de lo contrario no aparecerá el precipitado de óxido cuproso

2.4. ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son sustancias que retardan el comienzo o disminuyen la velocidad de oxidación de los materiales oxidables. Bajo condiciones fisiológicas, el organismo puede prevenir el daño producido por las especies oxidantes, a través de mecanismos de protección que incluye elevar los niveles intracelulares de defensas antioxidantes (Avendaño, 2001).

Todos los seres vivos consumen oxígeno para generar energía y liberar radicales libres, lo cual exige contar con defensas contra los diversos radicales libres, que por un lado tiendan a impedir su formación y por otro, neutralicen una vez formados. A estas defensas se les denomina antioxidantes (Halliwell y Gutteridge, 1996).

Su capacidad de antioxidante radica en la propiedad de cederle un electrón al radical libre tóxico o catalizar las reacciones químicas de los antioxidantes enzimáticos (Miquel, 1989).

2.4.1 Dentro de los agentes antioxidantes tenemos (Avendaño,2001)

a. Antioxidantes preventivos

Como los agentes quelantes, los que actúan atrapando a los cationes metálicos que intervienen en la descomposición del peróxido de hidrógeno a radical hidroxilo; evitando así la formación de estos últimos. En este grupo están la penicilamina, el EDTA y el profármaco dexrazoxano. También están incluidas las enzimas antioxidantes, las que actúan degradando al peróxido de hidrógeno como la glutatión peroxidasa, catalasa.

b. Antioxidantes que interrumpen la fase de propagación de procesos radicalarios

Tenemos a los agentes captadores de radicales (radical "scavenger") como los fenoles cuya estructura en general debe poseer dos características importantes, la presencia de sustituyentes voluminosos en las dos posiciones vecinas al hidroxilo y en la posición "para" la presencia de algún grupo que contribuya a la deslocalización del electrón desapareado. Por ejemplo los tocoferoles, fenoles naturales como flavonoides, cumarinas, lignanos, ácido cafeico, resveratrol; además otros captadores de electrones no fenólicos como ácido ascórbico y derivados, tioles y polienos como carotenoides.

c. Antioxidantes que actúan por estabilización de membrana

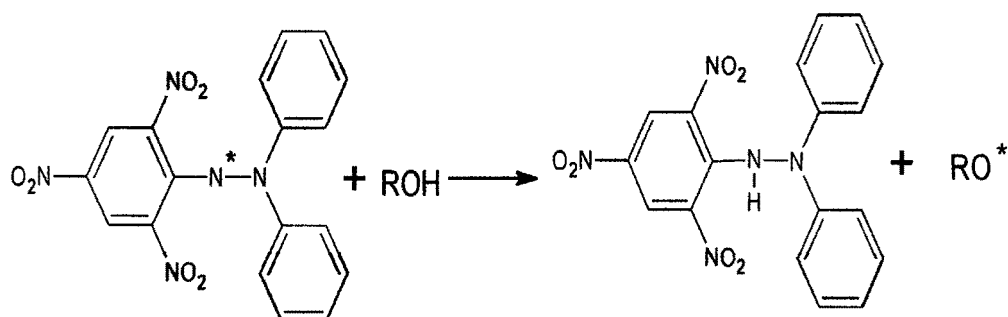
El modo de acción es complejo y todavía no está aclarado. Los efectos de estos contribuyen a cambiar las propiedades fisicoquímicas de las membranas celulares dificultando la extensión del proceso de peroxidación.

2.4.2. Actividad neutralizadora de radicales libres

Existen muchos métodos para evaluar la actividad antioxidantes en fuentes vegetales, como plantas medicinales y alimentos. Uno de ellos es el método de neutralización del radical libre 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH). El radical libre y estable DPPH, es una sustancia que mide la capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidativa (Chávez y col., 1996).

La solución del reactivo DPPH es de color violeta y presenta una absorbancia a 517 nm. La reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (compuesto puro o extracto) por el radical libre DPPH, desarrollando un cambio del color violeta a amarillo a medida que disminuye la concentración del radical libre (figura 5); el que se lee en el espectrofotómetro después de veinte a treinta minutos de reacción (Nenadis y Tsimidov, 2002).

La reacción entre la sustancia a evaluar y el DPPH se observa en la siguiente figura.



DPPH (púrpura) compuestos fenólicos DPPH (amarillo) Radical fenóxil

Figura 5. Secuestro del DPPH (radical libre) por un compuesto fenólico (secuestrador de radical libre).

2.4.3. Niveles de la acción antioxidante

Los antioxidantes, capaces de neutralizar a los radicales libres o sus acciones, actúan a diferentes fases. Actúan a niveles de prevención, interceptación y reparación. La acción preventiva, busca evitar la formación de los radicales libres de oxígeno (ROS). La interceptación de los radicales libres es principalmente por secuestro del radical, los radicales peróxido son los principales afectados en esta etapa. Los efectores incluyen a varios antioxidantes como las vitaminas A y E, glutatión, otros compuestos con grupo Tiol, carotenoides, flavonoides, etc. En el nivel de reparación y reconstitución están comprometidos sistemas enzimáticos principalmente (Devasagayam y col., 2004).

2.5. VITAMINA C

La vitamina C, o ácido ascórbico (vitamina antiescorbuta), es necesario para la prevención y la curación de la enfermedad por deficiencia, el escorbuto. Las soluciones de ácido ascórbico son fuertemente reductoras, y la vitamina

es oxidada con facilidad. En tejidos animales, la mayor parte de la vitamina se encuentra en su forma reducida, pero a medida que se desarrolla el escorbuto, aumenta la relación de forma oxidada-reducida. Esta propiedad de oxidorreducción reversible es la base más probable de la participación de esta vitamina en las reacciones biológicas (Remington, 1998).

La vitamina C tiene muchas funciones importantes. Un rango crucial de la vitamina C es el de sus propiedades antioxidantes. Puede reducir el hierro ferroso a férrico, con la estimulación de la absorción de hierro no hémico. Otros aspectos del metabolismo del hierro también se relacionan con la vitamina C, como la transferencia del hierro plasmático al hígado y a la ferritina para su almacenamiento y para la transferencia entre proteínas fijadoras de hierro. Actúa como agente protector en reacciones enzimáticas (Sedric, 1996).

Se comporta también como agente neutralizador de radicales libres derivados del oxígeno (hidroxilo, Superóxido, etc.) (Florez, 1997).

2.6. RADICALES LIBRES

Los radicales libres (RL) son moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón no apareado (aquel que ocupa una órbita atómica o molecular por sí mismo), puede existir de forma independiente y que, debido a la inestabilidad de su configuración electrónica, son generalmente muy reactivos. Esta reactividad es la base de su toxicidad y de su corta vida media (Mitjavila y col, 2001; Boots y col, 2008).

La generación de RL no se relaciona siempre con su toxicidad debido a que la función que desarrollan presenta dos caras opuestas, por un lado actúan como mediadores y reguladores a concentraciones fisiológicas, mientras que a concentraciones elevadas puede actuar como potentes oxidantes citotóxicos (Halliwell, 2006).

2.1.1. Lesión celular inducida por radicales libres

Un importante mecanismo de lesión de la membrana, es la lesión inducida por radicales libres, en particular por especies de oxígeno activado. Se trata de una vía común final de lesión celular en procesos tan variados como la lesión química y por radiación, la toxicidad por oxígeno y otros gases, el envejecimiento celular, la muerte microbiana por células fagocíticas, la lesión inflamatoria, la destrucción tumoral por macrófagos y otros. Los radicales libres permiten iniciar reacciones autocatalíticas, por lo que las que reaccionan se convierten ellas mismas en radicales libres para propagar la cadena de lesión (Robbins, 2001).

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 de cada una de ellas es distinta pero en todos los casos forman radicales libres que producen la lesión celular.

Los efectos de estas especies reactivas son de amplio rango, pero tres reacciones son particularmente importantes para la lesión celular (Robbins, 2001).

1. Peroxidación de los lípidos de las membranas

Las membranas plasmáticas y de los organelas poseen ácidos grasos insaturados que son propensos al ataque de los radicales libres derivado del oxígeno, en particular OH^* generando más radicales libres, originando una reacción autocatalítica en cadena con lesión de la membrana, organelas y células (Robbins, 2001).

2. 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.

3. Lesiones en el ácido desoxirribonucleico (ADN)

Las reacciones de los radicales libres con tiamina en el ADN producen roturas de la hebra simple del ADN, esto está implicado tanto en la muerte celular como en la transformación maligna de las células (Robbins, 2001).

Hay diversos sistemas enzimáticos y no enzimáticos que contribuyen a la terminación o inactivación de las reacciones de los radicales libres. Estos comprenden:

- Antioxidantes endógenas y exógenas, que bloquean la iniciación de la formación de radicales libres, o bien los inactivan. Ejemplos son la vitamina E, compuestos que contiene sulfhidrilo, como la cisteína y el glutatión; y proteínas séricas, como la albúmina, ceruloplasmina y transferrina.
- Enzimas, como superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa.

En muchos procesos patológicos, los efectos finales inducidos por los radicales libres dependen del balance neto entre la formación y terminación de éstos (Robbins, 2001).

2.1.2.Relevancia patológica de los radicales libres

El estrés oxidativo puede ser causante de algunas enfermedades. En otros muchos casos, acompaña a las enfermedades, pero no es su causa, sino una consecuencia más del proceso patológico. Incluso en estos casos la generación de especies oxidantes puede ser un importante mecanismo de lesión tisular. Algunos procesos patológicos en los que tiene importancia la generación de radicales libres son:

- Aterosclerosis

- **Diabetes**
- **Isquemia / Reperusión**
- **Enfermedades inflamatorias crónicas**
- **Artritis reumatoidea**
- **Cáncer**
- **Enfermedades degenerativas del Sistema Nervioso Central**
- **Alzheimer**
- **Cataratas**
- **Otros**

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios del Área Académica de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de Setiembre del 2011 a Enero del 2012.

3.2. MATERIALES

3.2.1.Población

Fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón" que fue recolectado en el distrito de Samugari – Palmapampa, provincia La Mar región Ayacucho ubicada a 850 m.s.n.m. (Anexo N° 06, fotografía 1).

3.2.2.Muestra Vegetal

3Kg de fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón" recolectado al azar en horas de la mañana (Anexo N° 07, Fotografía 2). Se seleccionó el fruto que no estaba dañado una vez seleccionado fue lavado, secado y guardado en bolsas de tela. Una parte de la muestra se llevó al Herbarium Huamangensis para su identificación y clasificación botánica (Anexo N° 01).

3.3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.3.1. Procedimiento para la recolección de la muestra

El procedimiento para la recolección, clasificación y secado de la muestra se realizaron de acuerdo a los procedimientos de recolección y conservación dadas por (Villar del Fresno, 1999).

Se seleccionó el fruto maduro que no esté dañado ni maltratado, para luego lavarlo, secarlo y guardarlo.

Luego se procedió a separar la pulpa de la semilla y se distribuyó en platos para luego llevarlo a secar en la estufa a 50 °C.

3.3.2. Preparación del extracto etanólico del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón"

Se obtuvo 1kg de la pulpa seca que fue triturada y macerada en frasco de color ámbar por una semana aproximadamente en 1.5 L de alcohol de 80°; éste cubrió a la muestra por 1 cm de diferencia, durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra. Luego se procedió a filtrar al vacío y se evaporó el extracto a presión reducida en el rotavapor a una temperatura menor o igual 50 °C obteniendo 60.32g de extracto etanólico de consistencia blanda y se conservó refrigerado (Anexo N° 08).

3.3.3. Ensayo fitoquímico cualitativo

La caracterización fitoquímica se basó en el agrupamiento de metabolitos estructuralmente semejantes, para identificarlos por su comportamiento químico frente a reacciones estandarizadas. Se realizaron las pruebas de coloración al extracto etanólico del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón" que se fundamentan en los cambios estructurales ocasionados en los metabolitos presentes, como aparición o desaparición de una coloración,

formación o dilución de un precipitado o desprendimiento de gas (Lock de Ugaz, 1994; Miranda y Cuellar, 2000) (Anexo N° 10).

3.3.4. Técnica de extracción de los compuestos fenólicos

Para obtener los compuestos fenólicos primero se suspende en agua destilada 28.35g de extracto etanólico seco y se realiza el desengrasado con éter de petróleo con la finalidad de eliminar grasas, ceras, pigmentos y otros metabolitos que pueden interferir en la extracción de compuestos fenólicos.

Extracción líquido-líquido con acetato de etilo utilizando embudo de separación, para recuperar finalmente la fracción de acetato de etilo y evaporarla a sequedad obteniendo 0.595g de extracto (Aguilar, 2007) (Anexo N° 11).

3.3.4.1. Identificación de los compuestos fenólicos

- Pruebas cualitativas

Reactivo de cloruro férrico: se agregó unas gotas de solución de cloruro férrico al 1% sobre la fracción de acetato de etilo obtenido en el anterior proceso resultando una coloración verde demostrando la presencia de compuestos fenólicos (Anexo N° 12, fotografía 4) (Lock de Ugaz, 1994).

- Pruebas cromatográficas

Para realizar las pruebas cromatográficas se utilizó cromatografía de capa fina con silicagel G60 HF254 B y cromatografía a escala preparativa con cromatofolios de 1 mm de espesor.

Cromatografía en capa fina (CCF)

- La fracción acetato de etilo se disolvió en 0,5 mL de metanol y mediante un capilar de vidrio, se aplicó en la parte inferior de la placa cromatográfica previamente activada (fase estacionaria).

- Se utilizó como sistema de solventes BAW (butanol, ácido acético y agua) en la proporción de 4:1:5 (Lock de Ugaz, 1998).
- Se colocó la placa de CCF en la cámara teniendo cuidado que el solvente no sobrepase a la muestra aplicada y dejándose que el líquido ascienda por capilaridad.
- Se sacó la placa de CCF de la cámara de cromatografía cuando el eluyente llegó a 2 cm de la parte superior de la placa (frente del solvente).
- Se dejó secar la placa de CCF al aire libre y se observó en la lámpara UV (Anexo N° 13, fotografía 5).
- Se reveló con cloruro férrico al 1%.
- Se observó la presencia de manchas (Anexo N° 14, fotografía 6).

3.4. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Método: Actividad Secuestradora del Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) (Aguilar, 2007).

Fundamento

Uno de los métodos para determinar la actividad antioxidante es aquel que emplea al radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (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.

Procedimiento

Para el ensayo se utilizó lo siguiente:

1. Una solución metanólica de DPPH de 20 mg/L.
2. Una solución metanólica de la fracción de acetato de etilo de 300 µg /mL (sol. A).
3. Un blanco con metanol: agua (2:1) para calibrar el espectrofotómetro a cero.

4. Un blanco de muestra con 0,75 mL de muestra (sol. A) y 1,5 mL de metanol.
5. Un patrón de referencia (estándar) con 1,5 mL de DPPH y 0,75 mL de agua destilada.
6. La muestra con 0,75 mL de solución A y 1,5 mL de DPPH obteniéndose una concentración final de 100 µg/mL, se dejó a temperatura ambiente por cinco minutos y se realizó la lectura de la absorbancia a 517 nm en el espectrofotómetro.
7. Se diluyó la solución A (2) con metanol en una proporción de 1:1 (sol. B) para obtener una concentración final de 50 µg/mL y luego en una proporción de 1: 9 (sol. C) para obtener una concentración final de 10 µg/mL.
8. Con las soluciones B y C se procederá igual que en el caso anterior.

Cálculos:

$$\% AA = 100 - \frac{(A_m - A_b)}{A_c} \times 100$$

Donde:

Ac: Absorbancia del Control DPPH

Am: Absorbancia de la muestra

Ab: Absorbancia del blanco de la muestra

% AA: porcentaje de Actividad Antioxidante

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de la actividad antioxidante son representados en forma de gráfico de barras en función de las medias. Las diferencias entre las medias son contrastadas mediante el Análisis de Varianza factorial (ANOVA) a una nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$).

IV. RESULTADOS

CUADRO N° 01: Metabolitos Secundarios presentes en el extracto etanólico del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón". Laboratorio de Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011.

| METABOLITOS SECUNDARIOS | REACTIVOS | OBSERVACIÓN | RESULTADOS |
|---------------------------------------|------------------------|----------------------------------|-------------------|
| Compuestos Fenólicos y Taninos | Cloruro Férrico | Verde negruzca | +++ |
| Azúcares reductoras | Benedict | Precipitado rojo ladrillo | +++ |
| Quinonas | Bomtrager | Fase amoniaca (rojizo) | +++ |
| Lactonas y Cumarinas | Baljet | Coloración roja | ++ |
| Catequinas | Catequinas | Verde carmelita | ++ |
| Aminas (aminoácidos) | Ninhidrina | Azul violáceo | ++ |

LEYENDA:

ABUNDANTE: (+++)

MODERADO: (++)

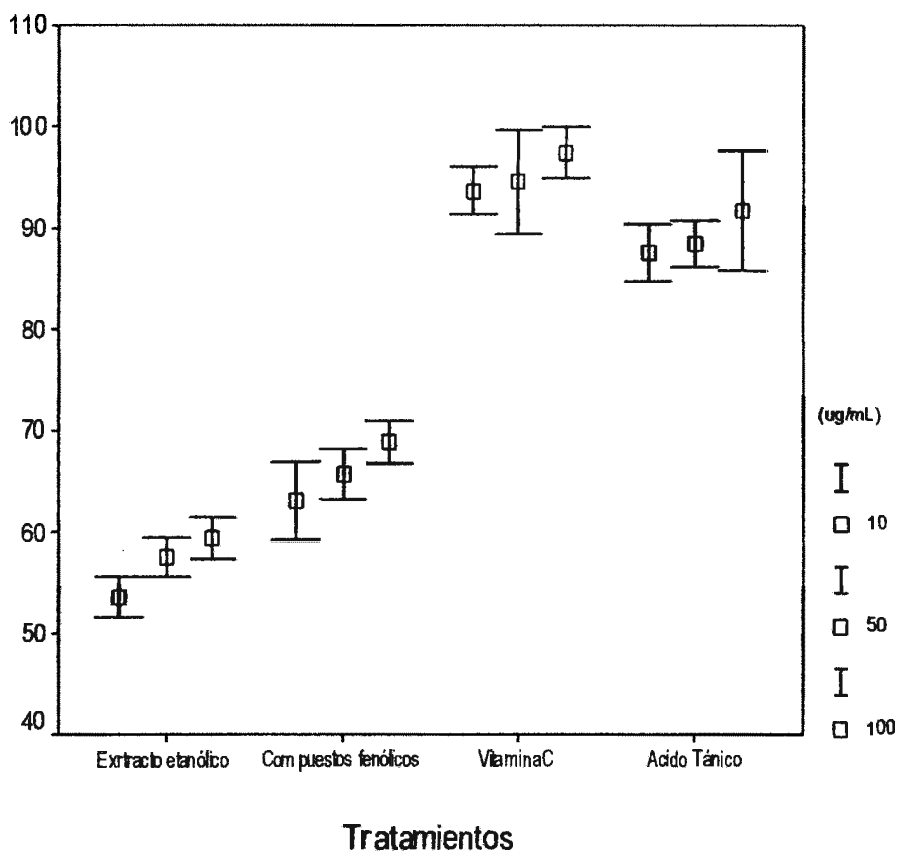


Gráfico N° 01 Variación de la actividad antioxidante por captación de radicales libres (DPPH) de los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón". Laboratorio de Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011.

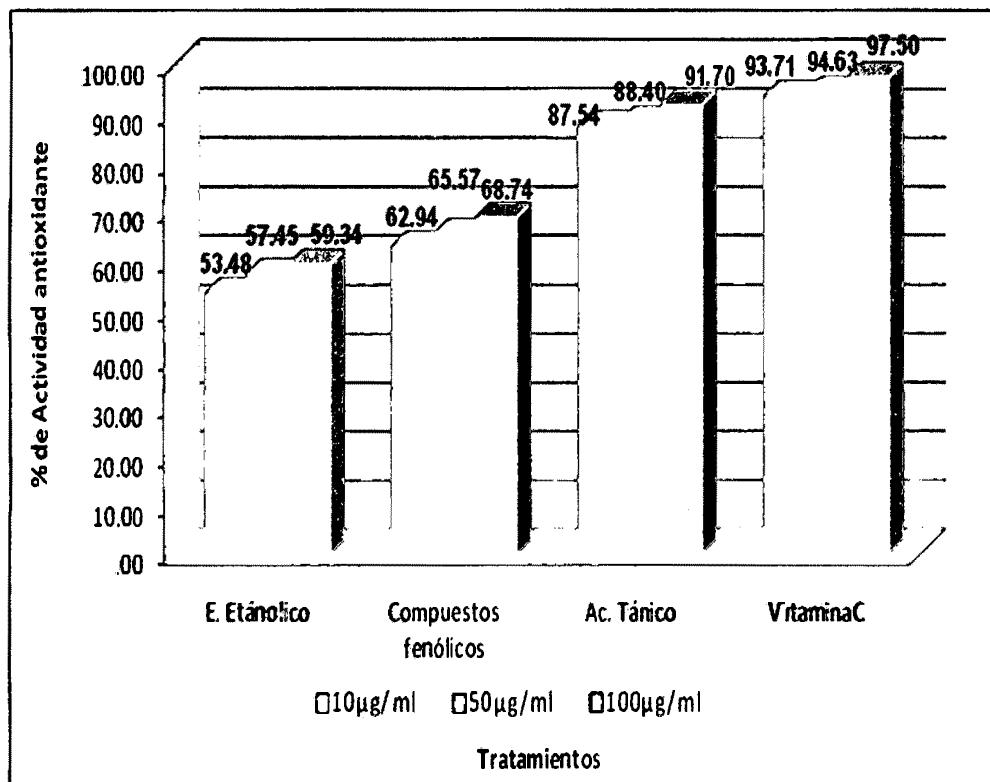


Gráfico N° 02 Porcentajes de captación del radical libre de los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón". Laboratorio de Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011.

V. DISCUSIÓN

Los radicales libres bombardean diariamente nuestras células, el hecho de que necesiten tantos años mayores es un tributo a la eficacia de las enzimas que producen nuestro propio organismo para neutralizarlo, nuestro sistema está luchando contra los radicales libres en cada momento del día. El exceso de radicales libres que no puede ser eliminado por el cuerpo y en su labor de captación de electrones, los radicales libres dañan a las membranas de nuestras células, llegando finalmente a destruir y mutar su información genética y facilitando así el camino para que se desarrolle diversos tipos de enfermedades crónicas como: Hipertensión Arterial (HTA), cáncer, diabetes, etc. La actividad antioxidante encontrada en esta especie vegetal capta a estos radicales libres, haciendo que el daño celular se detenga.

En el presente trabajo se propuso demostrar que el fruto comestible de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón", contienen principios activos con propiedades antioxidantes, siendo los compuestos fenólicos como taninos y fenoles, catequinas lactonas y cumarinas los responsables de dicha actividad (Cuadro N° 01).

En el trabajo realizado por Chavarría, 2011 sobre actividad antiulcerosa del extracto hidroalcohólico de los frutos de *Bunchosia armeniaca* "usón". Demostró que el extracto hidroalcohólico de los frutos de *Bunchosia*

armeniaca "usón" poseen actividad antiulcerosa también posee taninos y fenoles, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, quinonas, catequinas, aminoácidos y azúcares reductores.

De acuerdo a lo que señalan otros investigadores como: Aguilar y col., 2000; Bautista, 2000; Enciso, 2011 y otros, los responsables del efecto antioxidante son los compuestos de naturaleza fenólica determinadas cualitativamente por la prueba de Shinoda y FeCl_3 .

El método utilizado es la técnica *in vitro* de decoloración del radical estable DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo), la que nos da mayor confianza y seguridad en los resultados comparados con otros métodos para determinar la actividad antioxidante.

En los trabajos realizados sobre actividad antioxidante de las especies vegetales de (*Lígaria cuneifolia*, *Calceolaria cuneiformes* R.p. *Sub sp. Cuneiformes*, *Rosmarinus officinalis*) demuestran que los metabolitos secundarios encontrados en mayor cantidad son los flavonoides y taninos; y que dichos metabolitos son los responsables de la actividad antioxidante (Bautista, 2002; Casanova, 2004; Quispe, 2003).

En el cuadro N° 01 se observa los resultados de la identificación de los metabolitos secundarios del extracto etanólico del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón", reportándose en una cantidad moderada la presencia de lactonas y/o cumarinas, catequinas, aminoácidos y en abundante cantidad compuestos fenólicos, taninos, quinonas y azúcares reductores. Lo que más destaca en el estudio de los metabolitos secundarios es la presencia de taninos y fenoles, siendo el resultado una coloración verde negruzca (Anexo N° 12, fotografía 4).

En el Anexo N° 11 se observa el proceso de obtención de compuestos fenólicos del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón". Obteniendo de

49.59g de extracto etanólico la cantidad de 0.595g que representa en porcentajes 1.2% de rendimiento de los compuestos fenólicos aislados (fracción acetato de etilo).

Kuklinski, (2000). Menciona que el aislamiento de taninos puros ha permitido ensayar otras reacciones farmacológicas. Muchas de ellas se relacionan con su actividad antioxidante y la captura de radicales libres que han sido investigados en varios sistemas experimentales.

Villar de Fresno, (1999). Menciona que entre sus propiedades de los taninos destaca su capacidad de formar complejos con varias sustancias, pero además su actividad antioxidante, se fundamenta en la captura de radicales libres, constituye una de las actividades farmacológicas. Los taninos han sido utilizados desde la antigüedad por sus propiedades astringentes en uso interno y externo, propiedad ligada a la unión de las proteínas en la piel y las mucosas formando una especie de curtido que hace que las capas más superficiales sean menos permeables y protejan a las capas subyacentes, por eso es utilizada también en los casos de quemaduras y como cicatrizante. En uso interno son antidiarreicos, disminuyen el peristaltismo, y son antisépticas. Muchas de estas propiedades se relacionan con su actividad antioxidante y la captura de radicales libres, mediante el estudio de inhibición de la peroxidación de los lípidos en mitocondrias en el hígado de los ratones estudiados.

En el gráfico N° 01 se observa la variación de la actividad antioxidante por captación de radical libre; por efecto de los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón" comparado con el estándar de vitamina C y ácido tánico.

En el gráfico N° 02 se observa porcentajes de captación del radical libre de los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.)

DC. "usón" donde se muestra que los compuestos fenólicos aislados tienen mayor captación del radical libre como demuestra los resultados obtenidos a 10 µg/mL (62.94%), 50 µg/mL (65.57%), 100 µg/mL (68.74%) mientras el extracto etanólico demuestra los siguientes valores: a 10 µg/mL (53.48%), 50 µg/mL (57.45%), 100 µg/mL (59.34%).

En el trabajo realizado sobre la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas, tallos y frutos de *Schinus molle* L. "molle", muestra la presencia de los polifenoles, taninos, lactonas y/o cumarinas y azúcares reductores, los cuales son responsables de propiedades antioxidantes, donde se muestra que el extracto hidroalcohólico de hojas tuvo un 69.44%, seguido del tallo con un 56.23% y el fruto con 32.84% de captación del radical libre respectivamente; mientras los estándares: vitamina C tuvo 93.95% y el ácido tánico un 88.15% de captación del radical libre respectivamente (Urbano, 2011).

En el Anexo N° 03 (cuadro N° 02). Se muestra que los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón", a una concentración de 100 µg/mL presentó mayor porcentaje de captación del radical libre con un 68.74%, a la concentración de 50 µg/mL posee un 65,57% y a una concentración de 10 µg/mL mostró un 62.94% de captación de radical libre por lo tanto la actividad antioxidante está en función a la concentración, es decir a mayor concentración mejor actividad antioxidante. De igual manera se muestra que el extracto etanólico del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón", a una concentración de 100 µg/mL presentó un 59.34%, a 50 µg/mL mostró un 57.45% y a una concentración de 10 µg/mL mostró un 53.48% de captación del radical libre por lo tanto el extracto etanólico del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón" no muestra una mejor actividad antioxidante.

Asimismo confirmado por el análisis de varianza factorial (Anexo N° 04, Cuadro N° 03), esto explica que hay diferencia significativa entre el extracto etanólico y los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón". Según (Villar de Fresno, 1999) asumen que las plantas tienen actividad antioxidante principalmente debido a los compuestos fenólicos y también depende de la cantidad y calidad de los mismos.

Mientras que la diferencia de la actividad antioxidante se debe a la cantidad y calidad de los compuestos fenólicos presentes en la composición química de la especie ensayada.

En el gráfico N° 02. Se analiza también el tratamiento a los tres concentraciones del extracto, observándose que los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón" mostró mejor capacidad de captación de radical libre DPPH, en comparación con los estándares vitamina C y ácido tánico ya que tienen mayor capacidad captadora.

Los resultados detallados línea anterior demuestran que los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. A la concentración de 100 µg/mL expresados en porcentajes poseen mayor captación del radical libre, seguido a la concentración de 50 µg/mL y 10 µg/mL, más no así respecto a la vitamina C y ácido tánico; es decir que la actividad antioxidante es directamente proporcional a la concentración.

Posiblemente que los metabolitos secundarios presentes en el fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón", sean los responsables de la capacidad antioxidante, como se muestra en el estudio de tamizaje fitoquímico, que reporta la presencia de fenoles/taninos.

Con los resultados se concluye que los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón" tienen mayor contenido de

compuestos químicos con actividad antioxidante que el extracto etanólico que no tiene una mejor actividad antioxidante, pero no así comparado con la vitamina C y ácido tánico que posee mayor actividad antioxidante como estándares.

VI. CONCLUSIONES

1. Los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón" presentan moderada actividad antioxidante.
2. Los metabofitos secundarios identificados en el extracto etanólico del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón" son: taninos y fenoles, lactonas y/o cumarinas, quinonas, catequinas, aminoácidos y azúcares reductores.
3. Se aisló los compuestos fenólicos del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón" obteniendo 0.595g, que representa un rendimiento de 1.2%.
4. El porcentaje de actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón" fue a: 10 µg/mL (62.94%), 50 µg/mL (65.57%), 100 µg/mL (68.74%); el extracto etanólico: 10 µg/mL con (53.48%), 50 µg/mL (57.45%), 100 µg/mL (59.34%).

VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con los estudios y comprobar otras propiedades farmacológicas atribuidas ya que no existe estudios realizados anteriormente sobre *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón".
2. Realizar una formulación de una forma farmacéutica del fruto y/o hojas de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón".
3. Realizar un estudio comparativo de las hojas con el fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón".
4. Finalmente valorar a través de los trabajos realizados de investigación los recursos vegetales de la región como *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón", porque es una fruta comestible.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Aguilar E.** 2007. Estudio de los flavonoides aislados de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) y determinación de su actividad antioxidante e inmunomoduladora. Tesis de Maestría. UNMSM. Lima.
2. **Aguilar E.; Anaya B.; y Díez J.** 2000. Efecto antioxidante de extractos de algunas plantas medicinales utilizadas como antiinflamatorios en el Departamento de Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH.
3. **Aucasime L.** 2011. Descripción personal de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón". Laboratorios de Farmacobotánica. UNSCH. Ayacucho
4. **Avendaño L.** 2001. Introducción a la Química Farmacéutica. 2da edición. Ed. Mc Graw-Hill/ Interamericana de España.
5. **Bautista W.** 2002. Determinación de la actividad antioxidante por captación de radicales libres en extractos de *Solanum radicans* L.f "ñuchcu", *Ligaria cuneifolia* "tullma" y *Lavatera arbórea* "malva". Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. UNSCH Ayacucho – Perú.
6. **Boots A; Haenen G; Bast A.** 2008. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. Eu J. Pharmacol. Europa.
7. **Brack A.** 1999. Diccionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú – Cuzco. Centro de Estudios Regionales Andinas "Bartolomé de las Casas".
8. **Brunentón J.** 1991. "Elementos de fitoquímica y farmacognosia". Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España.
9. **Carhuapoma M.** 2006. Estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "arrayán". UNMSM. Lima.
10. **Casanova G.** 2004. Actividad antioxidante y antiulcerosa del extracto acuoso liofilizado de *Calceolaria cuneiformes* r.p. sub sp. *Cuneiformes*

“ayapa zapatum”. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. UNSCH Ayacucho— Perú.

11. **Chavarría N.** 2011. Actividad antiulcerosa del extracto hidroalcohólico de los frutos de *Bunchosia armeniaca* “usón”. Tesis para optar el Título profesional de Químico Farmacéutica. UNSCH Ayacucho Perú.

12. **Chávez R; Plaza A; Lock O.** 1996. Antioxidantes de origen vegetal. Revista de Química. Lima – Perú.

13. **Devagasayam TPA; Tilak JC; Bolor KK; Sane K; Ghaskadbi S; Lele RD.** 2004. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. J Assoc Physicians India.

14. **Enciso E.** 2011. Actividad antiinflamatoria y antioxidante de los flavonoides extraídos de las hojas de *Jungia Rugosa* Less “matico de puna”. Tesis de Doctorado. UNMSM. Lima.

15. **Evans W.** 1991. Farmacognosia. 4ª ed. Editorial Interamericana McGraw Hill. México.

16. **Flórez J.** 1997. Farmacología Humana. 2ª edición. Ediciones Científicas y Técnicas S.A. España.

17. **Goodman y Gilman.** 1998. bases farmacológicas de la terapéutica. 9na ed. Editorial Interamericana McGraw Hill. México.

18. **Halliwell B.** 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. Plant physiol.

19. **Halliwell B. y Gutteridge J.** (1989). Free radicals in biology and medicine. 2da Edición. Clarendon Press, Oxford – Inglaterra.

20. **Hertog MGL; Hollman PCH; Van de Putte B.** 1994. Content of Potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juice. J. Agric Food Chem.

21. **Knigth J.** 1995. "Diseases related to oxygen-derived free radicals". *Ann. Clin. Lab.*
22. **Kuklinski C.** 2000. *Farmacognosia: estudio de las drogas y sustancias medicamentosas e origen natural.* Editorial Omega. Barcelona.
23. **Lock O.**1994. *Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de los Productos Naturales.* 2ª Edición. Fondo Editorial de la Pontifica Universidad Católica del Perú. Perú.
24. **Miquel J.** (1989). *Historical introduction to free radical and antioxidant biomedical reseach.* En: *CRC Handboock of free radical and antioxidants in biomedicine.* Vol. 1. Boca Ratón. Florida – USA.
25. **Miranda M; Cuellar A.** 2000. *Manual de prácticas de laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales.* La Habana - Cuba: Editorial Instituto de Farmacia y Alimentos – Universidad de la Habana. Cuba.
26. **Miró M.** 1998. *Frutas Silvestres.* Diario El Comercio Lima - Perú.
27. **Mitjavila M; López D; Sáiz M.** 2001. *Los Radicales Libres y su implicación en procesos fisiológicos y patológicos.* España.
28. **Mostacero L; Mejía F.** 1993. *Taxonomía de Fanerógamas Peruanas.* 1ª ed. Editorial CONCYTEC. Perú.
29. **Nenadis N; Tsimidov M.** 2002. *Observations on the estimation of scavenging activity of phenolic compound using rapid 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. (DPPH) Tests.*
30. **Proestos C; Chorianopoulos N; Nychas G; Komaitis M.** 2005. *RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxi-dant capacity and antimicrobial activity.* *J. Agric. Food Chem.*
31. **Quispe C.** 2003. *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 profesional de Químico Farmacéutico. UNSCH Ayacucho – Perú.

32. Remington. 1998. Farmacia. 19ava edición. Edit. Médica. Argentina

33. Rodríguez D. 2002. La Revista Internacional de Procesamiento de Alimentos a Pequeña Escala. Editor Barrie Axtell. Perú.

34. Robbins S. 2001. Tratado de patología estructural y funcional. Sexta Edición. Editorial Mc Graw–Hill Interamericana Editores S.A. México.

35. Sannomiya M; Fonseca V; Da Silva M; Rocha M; Santos W. 2005. Determinación de flavonoides y actividad gastroprotectora del extracto metanólico y clorofórmico de las hojas de *Byrsonima crassa Niedenzu*. Journal of ethnopharmacology.

36. Sedrick M. 1996. Farmacología. Edit. Médica Panamericana. Buenos Aires – Argentina.

37. Suárez S. y Oré R. 1999. Resumen de curso de Radicales Libres su importancia en la clínica y el laboratorio. Instituto de Bioquímica y Nutrición. Facultad de Medicina Humana. UNMSM Lima – Perú.

38. Towle M. 2007. The Ethnobotany of pre-columbian Perú. 1a ed. Editorial McGraw Hill. USA.

39. Urbano A. 2011. Actividad antioxidante del extracto hidroalcoholico de hojas, tallos y frutos de *Schinus molle L.* "molle". Tesis para optar el Título profesional de Químico Farmacéutica. UNSCH Ayacucho Perú.

40. Villar de fresno M. 1999. Farmacognosia General. Editorial Síntesis. España.

41. Velioglu Y. y col. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. J. Agric. Food Chem.

ANEXOS

ANEXO Nº 01



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. **Janeth, CÁRDENAS LAGOS**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de Tesis. Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de CRONQUIST, A. 1988 y es como sigue:

| | | |
|----------|---|---------------------------------------|
| DIVISIÓN | : | MAGNOLIOPHYTA |
| CLASE | : | MAGNOLIOPSIDA |
| SUBCLASE | : | ROSIDAE |
| ORDEN | : | POLYGALALES |
| FAMILIA | : | MALPIGHIACEAE |
| GENERO | : | Bunchosia |
| ESPECIE | : | <i>Bunchosia armeniaca (Cav.) DC.</i> |
| N.V. | : | "uson" |

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

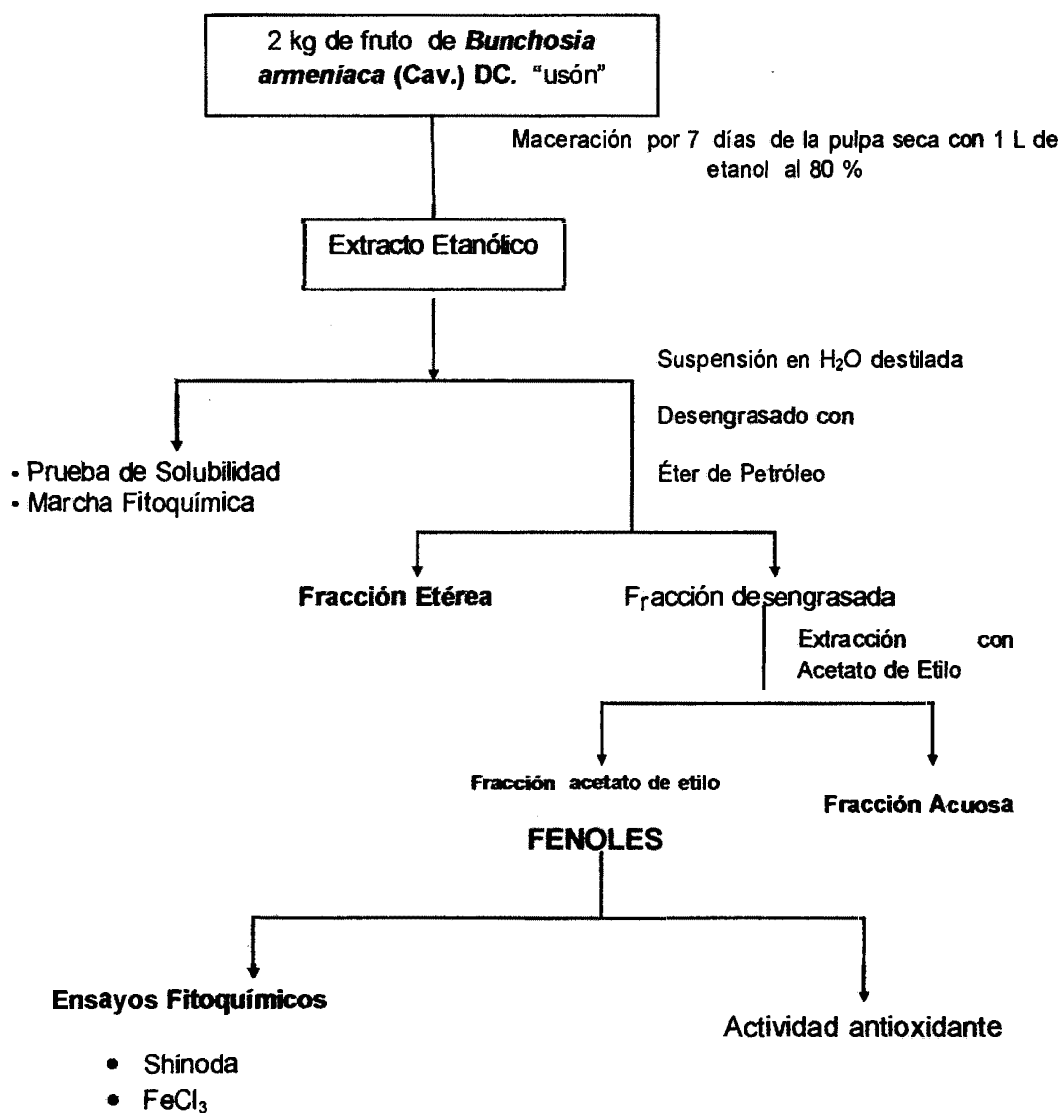
Ayacucho, 22 de Setiembre del 2011

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

Bga. Lourdes Mercedes Medina
JFE

ANEXO N°02

Esquema de obtención de los compuestos fenólicos del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón", ensayos fitoquímicos.



ANEXO N°03

Cuadro N° 02: Porcentaje de captación de radical libre de los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón". Laboratorio de Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011.

| Muestras | | Concentración (µg/mL) | | |
|----------------------|--------------|-----------------------|-----------|------------|
| | | 10(µg/mL) | 50(µg/mL) | 100(µg/mL) |
| Extracto etanólico | | 53.48% | 57.45% | 59.34% |
| Compuestos fenólicos | | 62.94% | 65.57% | 68.74% |
| Estándar | Vitamina C | 93.71% | 94.63% | 97.5% |
| | Ácido tánico | 87.54% | 88.40% | 91.7% |

ANEXON°04

Cuadro N° 03: Análisis de varianza factorial del porcentaje de captación de radical libre por concentración con respecto a los tratamientos, de los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón". Laboratorios del Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011

ANOVA^{a,b}

| | | | Método único | | | | |
|---|---------------------|-----------------------|-------------------|----|------------------|--------|------|
| | | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig |
| Porcentaje de captación del radical libre | Covariables | Tratamientos | 7246.371 | 1 | 7246.371 | 117.09 | .000 |
| | Efectos principales | Concentración (ug/mL) | 145.195 | 2 | 72.597 | 1.173 | .322 |
| | Modelo | | 7391.566 | 3 | 2463.855 | 39.812 | .000 |
| | Residual | | 1980.385 | 32 | 61.887 | | |
| | Total | | 9371.951 | 35 | 267.770 | | |

a. Porcentaje de captación del radical libre por Concentración (ug/mL) con Tratamientos

b. Todos los efectos introducidos simultáneamente

ANEXO N°05

Cuadro N° 04: Esquema para la determinación de captación del radical libre de los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón". Laboratorio de Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011.

| | MUESTRA | BLANCO M. | ESTANDAR | BLANCO |
|----------|---------|-----------|----------|--------|
| EXTRACTO | 0.75 | 0.75 | - | - |
| DPPH | 1.5 | - | 1.5 | - |
| METANOL | - | 1.5 | - | 1.5 |
| AGUA | - | - | 0.75 | 0.75 |

ANEXO N°06



Fotografías 1: Etapa de recolección del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón". Laboratorio de Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho –2011.

ANEXO N°07



Fotografías 2: Fruto maduro recolectada de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón". Laboratorio de Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011.

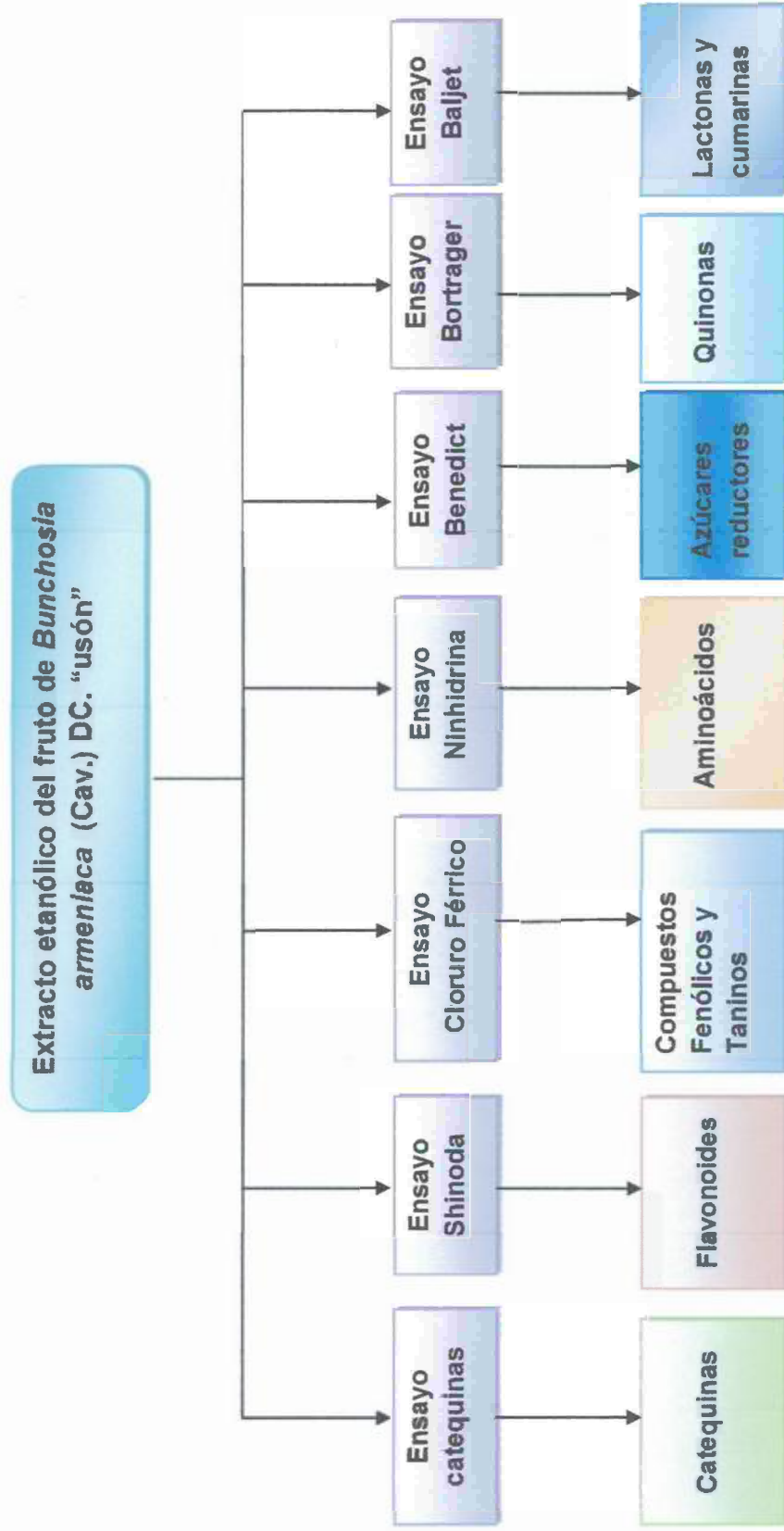
ANEXO N°08

Etapas del proceso de obtención del extracto etanólico del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón". Laboratorio de Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011.



ANEXO Nº 09

Flujograma del tamizaje fitoquímico



ANEXO Nº 10



Fotografía 3: Resultado de la identificación de los metabolitos secundarios del extracto etanólico de los frutos de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. “usón”. Laboratorio de Farmacognosia del Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011

ANEXO N° 11

Etapas del proceso de obtención de compuestos fenólicos del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. "usón". Laboratorio del Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011



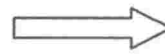
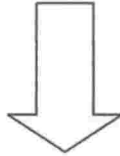
Extracto etanólico seco
Suspendido en agua

Desengrasado con
éter de petróleo
Por 72 horas





Extracción con acetato de etilo



Se deja reposar por 24 horas



Obtención de la fracción acetato

Evaporar a sequedad y guardarlo para realizar las pruebas

ANEXO N° 12

Identificación de los compuestos fenólicos aislados del fruto de *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. “usón”. Laboratorio del Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011



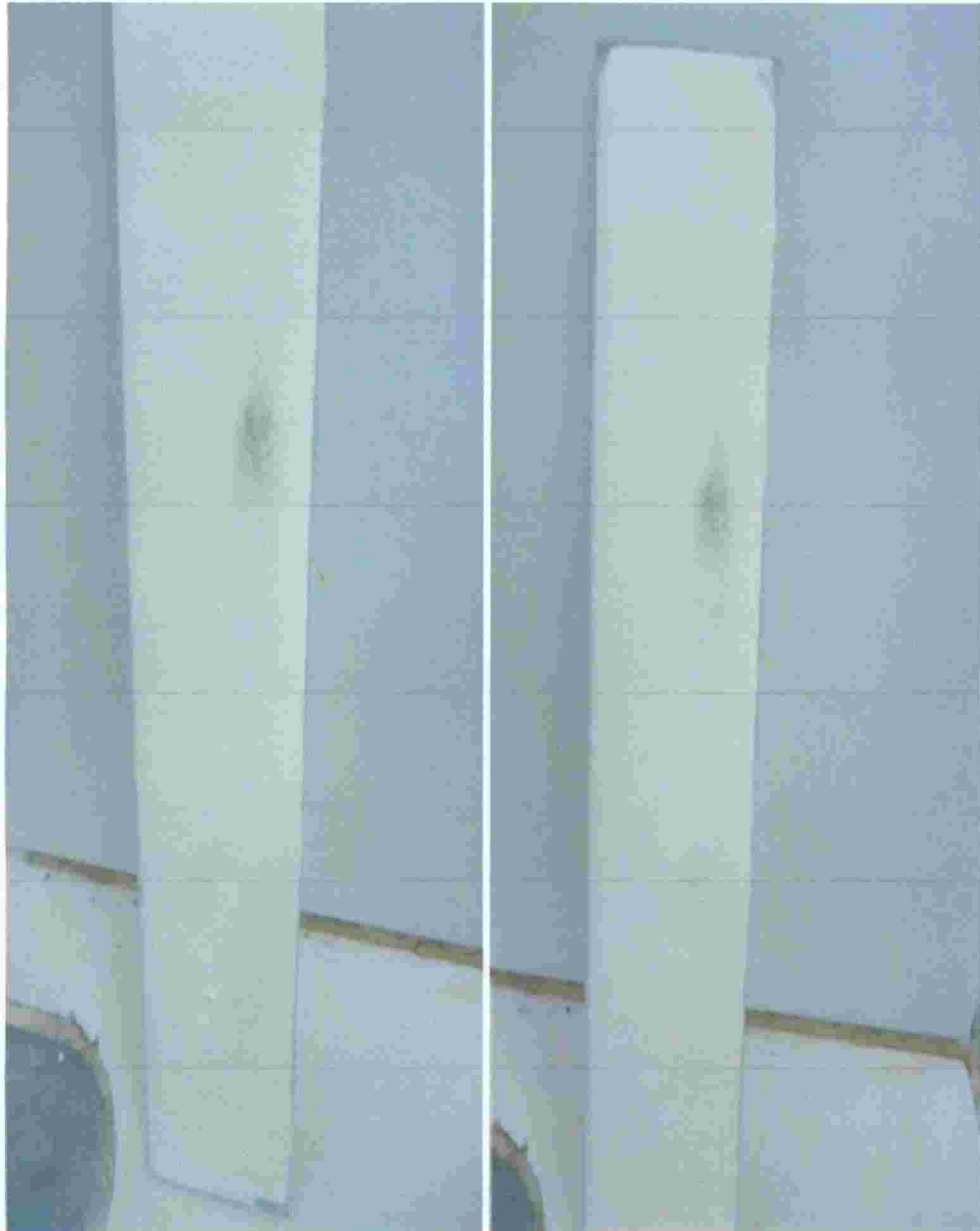
Fotografía 4: Ensayo cualitativo con cloruro férrico al 1%. Laboratorio del Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011.

ANEXO Nº 13



Fotografía 5: Ensayo cromatográfico: observación a la luz UV. Laboratorio del Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011.

ANEXO Nº 14



Fotografía 6: Ensayo cromatográfico: revelado con cloruro férrico.

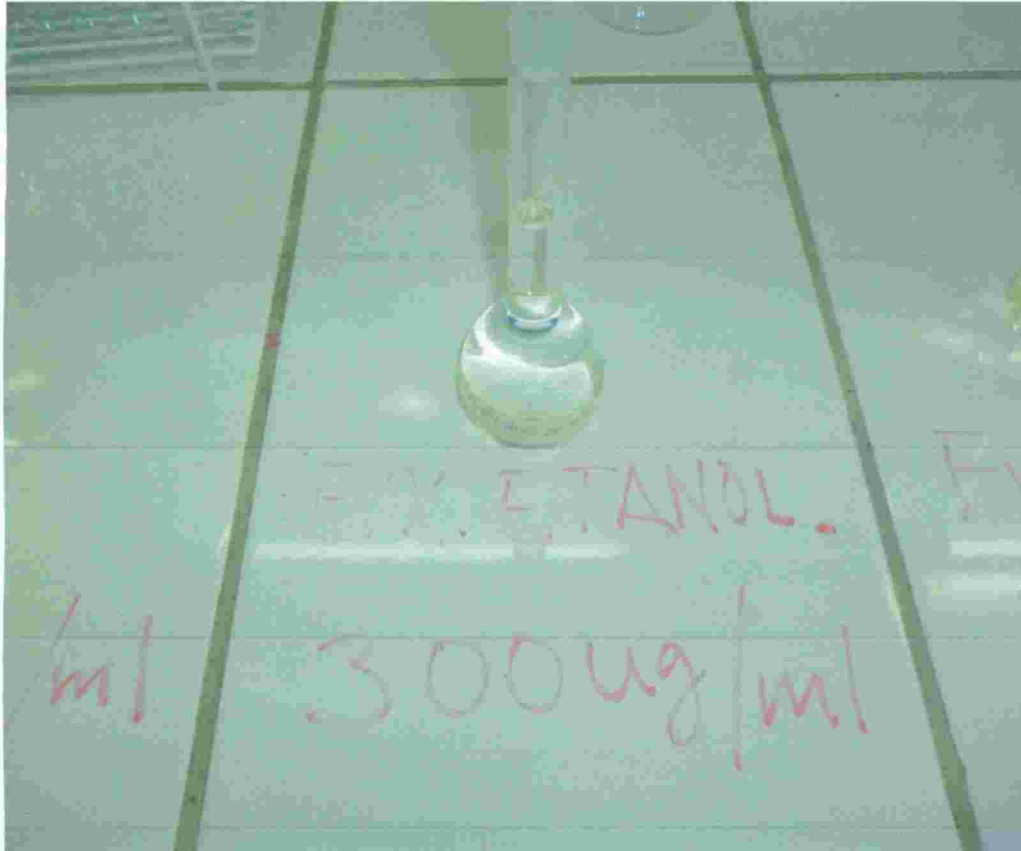
Laboratorio del Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho–2011.

ANEXO N°15



**Fotografía 7: Preparación de las muestras para realizar las pruebas.
Laboratorio del Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011.**

ANEXO Nº 16



Fotografías 8: Muestra preparada para realizar la prueba. Laboratorio del Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho - 2011

ANEXO Nº 17



Fotografía 11: Muestras preparadas para la lectura correspondiente en el espectrofotómetro. Laboratorio del Área de Farmacia. UNSCH Ayacucho – 2011