

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



**Efecto antioxidante y sobre la fertilidad del extracto  
atomizado de las hojas y tallos de *Cnidocolus  
diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo  
hembra". Ayacucho - 2022**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR:

**Bach. TABOADA HUAMAN, Diana**

**ASESOR: DR. Q.F. TINCO JAYO JOHNNY ALDO**

AYACUCHO - PERÚ

2023

A Dios por guiarme siempre.

A mi madre, por ser mi  
fortaleza.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi *alma máter*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, a mi Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, por ofrecerme la oportunidad de formarme profesionalmente.

Agradezco mucho a mi asesor Dr. QF. Johnny Aldo Tinco Jayo, quien me brindó su apoyo de manera extraordinaria en la elaboración de esta tesis, por sus conocimientos compartidos y sugerencias dadas.

Al Mg. QF. Enrique Javier Aguilar Felices por su colaboración, sugerencias y asesoría.

Al Fondo de Camisea (FOCAM), al Vicerrectorado de investigación y a la Oficina de Investigación e Innovación de la UNSCH, por el financiamiento para el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A las personas que me alentaron a continuar con mis metas, propósitos, crecimiento profesional y desarrollo en la ejecución de esta tesis.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xvii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes	5
2.2. <i>Cnidoscopus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr.	8
2.3. Radicales libres	10
2.4. Origen de radicales libres	11
2.5. Estrés oxidativo	11
2.6. Mecanismo de los oxidantes	11
2.7. Antioxidantes	12
2.8. Compuestos fenólicos	12
2.9. Actividad antioxidante de los polifenoles	14
2.10. Efecto de los antioxidantes sobre la salud	14
2.11. Métodos para determinar la actividad antioxidante	15
2.12. Hormonas sexuales y fertilidad	17
2.13. Metoclopramida	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Ubicación	21
3.2. Población y muestra	21
3.3. Diseño de la metodología y recolección de datos	21
3.4. Determinación del contenido de fenoles totales	22
3.5. Determinación del contenido de flavonoides	23
3.6. Evaluación de la capacidad antioxidante	23
3.7. Determinación del efecto del extracto atomizado de las hojas y tallos de <i>Cnidoscopus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" sobre la fertilidad en ratas.	25
3.8. Tipo y diseño de investigación	29
3.9. Análisis estadístico de datos	30

IV.	RESULTADOS	31
V.	DISCUSIÓN	47
VI.	CONCLUSIONES	57
VII.	RECOMENDACIONES	59
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
	ANEXOS	67

## ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1.	Distribución de la unidad experimental en grupos para determinar el efecto sobre la fertilidad del extracto atomizado de hojas y tallos.	26
Tabla 2.	Metabolitos secundarios encontrados en el extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidoscolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.	32
Tabla 3.	Compuestos fenólicos presentes en el extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidoscolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.	33
Tabla 4.	Contenido de fenoles totales y flavonoides en el extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidoscolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.	34
Tabla 5.	Capacidad antioxidante equivalente a trolox (TEAC) de los ensayos de DPPH y ABTS del extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidoscolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.	35

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. <i>Cnidocolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo macho”. Lugar poblado de Ninabamba, distrito de Ocros, de la provincia de Huamanga.	8
Figura 2. Clasificación de los compuestos fenólicos	13
Figura 3. Núcleo estructural de los flavonoides	14
Figura 4. Estructura química del radical libre DPPH	16
Figura 5. Estructura química del ABT	17
Figura 6. Estructura del complejo coloreado Fe <sup>+3</sup> -TPTZ	17
Figura 7. Efecto sobre el nivel de la hormona testosterona en ratas hembras <i>Holtzman</i> con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidocolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.	36
Figura 8. Efecto sobre el nivel de la hormona testosterona en ratas machos <i>Holtzman</i> con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidocolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.	37
Figura 9. Efecto sobre el nivel de la hormona progesterona en ratas hembras <i>Holtzman</i> con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidocolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.	38
Figura 10. Efecto sobre el nivel de la hormona progesterona en ratas machos <i>Holtzman</i> con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidocolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.	39
Figura 11. Efecto sobre el nivel de la hormona estradiol (E <sub>2</sub> ) en ratas hembras <i>Holtzman</i> con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidocolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.	40

- Figura 12. Efecto sobre el nivel de la hormona estradiol ( $E_2$ ) en ratas machos *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022. 41
- Figura 13. Efecto sobre el nivel de hormona luteinizante (LH) en ratas hembras *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022. 42
- Figura 14. Efecto sobre el nivel de hormona luteinizante (LH) en ratas machos *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022. 43
- Figura 15. Efecto sobre el nivel de hormona folículo estimulante (FSH) en ratas hembras *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022. 44
- Figura 16. Efecto sobre el nivel de hormona folículo estimulante (FSH) en ratas machos *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022. 45



## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Constancia de identificación de la especie <i>Cnidoscolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.	68
Anexo 2	Procedimientos de obtención de extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidoscolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”, Ayacucho – 2022.	69
Anexo 3	Identificación de los metabolitos secundarios contenidos en el extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidoscolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”, según Miranda y Cuéllar (2000). Ayacucho – 2022.	70
Anexo 4	Ilustración de la determinación del contenido de fenoles totales de extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidoscolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.	71
Anexo 5	Ilustración de la evaluación del contenido de flavonoides del extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidoscolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.	72
Anexo 6	Flujograma para evaluar la actividad antioxidante por el método DPPH de hojas y tallos del extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidoscolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.	73
Anexo 7	Diagrama para la determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS de extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidoscolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.	74
Anexo 8	Esquema para la evaluación de la actividad antioxidante por el método FRAP de extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidoscolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.	75
Anexo 9	Prueba de normalidad Shapiro – Wilk, prueba de T student’s y prueba de homogeneidad de varianza para fenoles totales y	76

	flavonoides del extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidocolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.	
Anexo 10	Prueba de normalidad Shapiro – Wilk, prueba de T student’s y prueba de homogeneidad de varianza para la capacidad antioxidante equivalente a trolox (TEAC) del ensayo de DPPH de los compuestos fenólicos de extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidocolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.	77
Anexo 11	Procedimiento del efecto sobre la fertilidad del extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidocolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” en ratas <i>Holtzman</i> . Ayacucho – 2022.	78
Anexo 12	Análisis de Varianza (ANOVA) del efecto sobre el nivel de la hormona testosterona, progesterona, estradiol, LH, FSH en ratas hembras <i>Holtzman</i> con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidocolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.	79
Anexo 13	Análisis de Varianza (ANOVA) del efecto sobre el nivel de la hormona testosterona, progesterona, estradiol, LH, FSH en ratas machos <i>Holtzman</i> con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidocolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.	80
Anexo 14	Prueba de Tukey del efecto sobre el nivel de la hormona testosterona en ratas <i>Holtzman</i> con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidocolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.	81
Anexo 15	Prueba de Tukey para el efecto sobre el nivel de la hormona progesterona en ratas <i>Holtzman</i> con tratamiento de extracto	82

atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

- Anexo 16 Prueba de Tukey del efecto sobre el nivel de la hormona estradiol en ratas *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022. 83
- Anexo 17 Prueba de Tukey del efecto sobre el nivel de la hormona luteinizante (LH) en ratas *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022. 84
- Anexo 18 Prueba de Tukey del efecto sobre el nivel de la hormona folículo estimulante (FSH) en ratas *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022. 85
- Anexo 19 Matriz de consistencia: Efecto antioxidante y sobre la fertilidad del extracto atomizado de las hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022. 86

## RESUMEN

La fertilidad es la cualidad que tiene una persona (varones como mujeres) para reproducirse, en la actualidad más allá de la genética y fisiología existen factores que pueden alterarla generando la infertilidad, uno de ellos son la presencia de radicales libres y la falta de antioxidantes en el organismo, conllevando al envejecimiento celular y generando así la infertilidad, la disminución de la concentración de las hormonas, la calidad de las células sexuales (espermatozoides y óvulos), la pérdida de sus funciones, entre otras afecciones. El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto antioxidante y sobre la fertilidad del extracto atomizado de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”, realizado en los laboratorios de Farmacognosia y Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica – UNSCH, durante los meses de abril a noviembre de 2022. Se consiguió el extracto atomizado de las hojas y tallos gracias al secador por pulverización de laboratorio OLT-SD8000B. Se realizó el tamizaje fitoquímico identificando fenoles, flavonoides, glucósidos cardiotónicos, terpenos, lactonas. Se determinó el contenido de fenoles totales y flavonoides por los métodos de Folin-Ciocalteu y cloruro de aluminio. La determinación de la actividad antioxidante fue realizada a través de los métodos del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), el radical 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS<sup>2+</sup>) y el potencial antioxidante reductor del hierro (FRAP) y determinación de la fertilidad mediante el dosaje de hormonas sexuales. Los tallos mostraron mayor contenido de fenoles totales y flavonoides ( $464,38 \pm 4,40$  GAE/g y  $369,17 \pm 3,16$  mg QE/g de extracto) que las hojas ( $212,38 \pm 3,19$  mg GAE/g y  $121,49 \pm 2,69$  mg QE/g de extracto), siendo estas diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los resultados de la capacidad antioxidante equivalente a trolox para los tallos con los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP fueron ( $597,20 \pm 5,40$ ;  $452,67 \pm 5,76$  y  $535,91 \pm 1,56$   $\mu\text{mol ET/g}$  de extracto) superiores a hojas ( $462,39 \pm 3,99$ ;  $202,32 \pm 5,20$  y  $198,13 \pm 1,44$   $\mu\text{mol ET/g}$  de extracto); ( $p < 0,05$ ). En la evaluación del efecto sobre la fertilidad demostró que el extracto atomizado a dosis de 100 mg/Kg incrementa los valores de las hormonas como testosterona en ratas machos un 1,430 ng/mL (hojas) y un 1,433 ng/mL (tallos), progesterona en ratas hembras en hojas y tallos un 2,500 ng/mL, estradiol en ratas hembras en un 10,425 ng/mL (hojas) y un 8,775 ng/mL (tallos) con respecto al estándar (5,300 ng/mL) y el blanco (4,425 ng/mL). Además, se observa que el extracto atomizado ocasiona una disminución significativa en las hormonas LH a dosis de 100 mg/Kg en ratas machos en un 0,320 mIU/mL (hojas) y un 0,273 mIU/mL (tallos) con respecto al estándar (0,860 mIU/mL) y el blanco (0,825 mIU/mL), en la FSH en ratas hembras en un 0,858 mIU/mL (hojas) y un 0,840 mIU/mL (tallos) con respecto al estándar 1,725 mIU/mL y blanco 1,435 mIU/mL, en ratas machos un 0,220 mIU/mL (hojas) y un 0,200 mIU/mL (tallos) con respecto al estándar (0,558 mIU/mL) y el blanco (0,765 mIU/mL); demostrándose así que hay diferencias significativas en los tratamientos ( $p < 0,05$ ). Se concluye que los tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” tienen mayor capacidad antioxidante que las hojas, mientras las hojas presentan mayor efecto sobre la fertilidad.

**Palabras clave:** *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”, antioxidante, hormonas, fertilidad.

## I. INTRODUCCIÓN

En el mundo se ha identificado diecisiete países con gran biodiversidad, dentro de los cuales tenemos al Perú, que está considerado dentro de las áreas geográficas megadiversas en recursos de flora y fauna. En ella se destaca la presencia de plantas útiles para el ser humano, como alimento y medicina, que se han utilizado desde la época preincaica e inca, donde las plantas medicinales son una fuente muy importante de moléculas esenciales en la industria farmacéutica.<sup>1</sup>

Las plantas contienen gran variedad de metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos o polifenoles que se clasifican en diferentes tipos de grupos funcionales, estas moléculas son consideradas como importantes antioxidantes que se encuentran presentes en frutas, hortalizas, raíces y cereales.<sup>2</sup>

Además, tienen funciones metabólicas, de desarrollo, función defensora y/o protectora frente a agentes externos como la radiación UV, estrés, algunos depredadores y patógenos.<sup>2</sup>

Los polifenoles están formados por un conjunto numeroso de diversas estructuras químicas desde simples hasta complejas, de este grupo tenemos los más importantes los ácidos fenólicos y flavonoides, las cuales tienen propiedades antioxidantes por su capacidad de eliminar radicales libres, que puede estar asociada con la protección frente a padecimientos del corazón, vasos sanguíneos y oncológicos.<sup>3</sup>

Tenemos a los flavonoides un grupo de compuestos polifenólicos ampliamente distribuidos y clasificados de acuerdo a su estructura química, la actividad protectora frente a radicales libres de los flavonoides se debe a una combinación de sus propiedades quelatantes de hierro y secuestradoras de radicales libres (RL). Además, presentan actividad antiinflamatoria, antialérgica, antibacteriana, antifúngica y antitrombóticas.<sup>4</sup>

Los antioxidantes forman parte de los alimentos de consumo diario y que puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas (radicales libres) sobre

las funciones fisiológicas normales de los humanos. Un radical libre se libera durante el metabolismo humano, y se producen por contaminantes ambientales, radiaciones, entre otros, las cuales son considerablemente reactivas y forman reacciones en cadena, generando así mayor daño potencial, conlleva al desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes, llamado estrés oxidativo. Si el equilibrio se altera, puede deberse a deficiencias en los sistemas antioxidante o a la propagación indisciplinada de los RL, generando el desarrollo de diferentes enfermedades.<sup>5</sup>

El género *Cnidoscopus* comprende una gran variedad de especies que presentan grandes actividades biológicas como antioxidante, antiinflamatoria, hipoglucemiante, antimicrobiana, hepatoprotector, cardioprotector y vasoconstrictor, debido a que biosintetizan metabolitos secundarios como fenoles, flavonoides, glucósidos cianogénicos, ácidos grasos, esteroides, triterpenos, alcaloides, antraquinonas, saponinas y taninos.<sup>6,7</sup>

*Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”, es utilizado por la población por sus propiedades y beneficios afrodisíacos, algunos estudios de la especie nos muestran que aportan beneficios farmacológicos (antioxidante, hipoglucemiante, antiinflamatorio, entre otros). Razón por cual se planteó evaluar el contenido de fenoles y flavonoides, y determinar la propiedad antioxidante de las hojas y tallos, ya que no existe información sobre la relación entre capacidad antioxidante de esta especie y el contenido de polifenoles, por otra parte, se propuso la evaluación del efecto sobre la fertilidad, para demostrar los niveles de hormonas sexuales en los animales, mediante la determinación cuantitativa aplicando técnicas de inmunoensayos de fluorescencia.

Los métodos más utilizados para medir la capacidad antioxidante son el DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo), ABTS (2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico) y FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). El análisis de contenido de fenoles se realizó por el método Folin-Ciocalteu, y para fijar el contenido de los flavonoides totales se empleó el reactivo tricloruro de aluminio ( $AlCl_3$ ). De acuerdo a todo ello se formularon los siguientes objetivos:

#### **Objetivo general**

- Evaluar el efecto antioxidante y sobre la fertilidad del extracto atomizado de las hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”.

### **Objetivos específicos**

- Determinar el contenido de compuestos fenólicos: fenoles totales y flavonoides de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”.
- Establecer la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos con modelos de DPPH, ABTS Y FRAP.
- Determinar el efecto de las hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” sobre la testosterona, progesterona, estradiol, FSH y LH en ratas.
- Comparar el efecto de las hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” con la metoclopramida.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

Luna<sup>8</sup>, en el año 2014 en su estudio “Evaluación de la actividad antioxidante e hipoglucemiante de un jarabe de extracto acuoso de hojas de chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*) libre de glucósidos cianogénicos”, realizó el tamizaje fitoquímico donde observó la presencia de taninos, fenoles, saponinas, flavonoides y glucósidos cianogénicos. Su potencial antioxidante se determinó mediante la reducción de hierro férrico a su estado ferroso mediante el método FRAP utilizando como patrón la vitamina C. Como resultado el producto mostró un alto valor reductor, cercanos, aunque estadísticamente diferente al estándar, por lo que se puede indicar que el producto tiene actividad antioxidante.

Mena<sup>7</sup>, en el año 2016 en su investigación “Estudio fitoquímico de extractos de hojas de *Cnidoscolus chayamansa* Mc Vaugh (chaya)”, donde determinó que los índices de control de calidad de las drogas avalan la calidad del extracto de las hojas de esta planta y sus metabolitos secundarios, a través del tamizaje fitoquímico, donde se observaron el contenido de ácidos grasos, alcaloides, fenoles, taninos, cumarinas, quinonas, triterpenos, esteroides, resinas, azúcares reductores, saponinas, aminoácidos, flavonoides, glucósidos cardiotónicos, entre otros.

Zambrano *et al.*<sup>9</sup>, en el año 2017 en su estudio “Actividad antiinflamatoria, antioxidante y antimicrobiana del extracto orgánico de *Cnidoscolus tehuacanensis* Breckon y su fraccionamiento químico”, determinó el contenido polifenoles del extracto crudo, observándose estas de forma escasa. La evaluación de la capacidad antioxidante se realizó aplicando el ensayo colorimétrico con DPPH, se observó que el extracto crudo a la máxima concentración probada (2 mg/mL)



mostró un pobre porcentaje de inhibición siendo de  $22,36 \pm 0,02$  %, mientras que a la mínima concentración ( $125 \mu\text{g/mL}$ ) el porcentaje de inhibición fue  $15,40$  %. Al realizar una comparación con el control positivo (quercetina), éste mostró un  $96,03 \pm 0,01$  % de inhibición a la concentración de  $35 \mu\text{g/mL}$  y a la concentración mínima ( $5 \mu\text{g/mL}$ ) presentó un  $27,48 \pm 0,03$  de inhibición; los resultados indican que la actividad antioxidante del extracto fue escasa.

Sánchez<sup>10</sup> en el año 2018 en su investigación “Evaluación del efecto antiproliferativo sobre la línea celular DU-145 y estudio fitoquímico de *Cnidoscolus multilobus* (PAX) I.M. Johnston”, en la marcha fitoquímica ejecutada al extracto liofilizado de las hojas se ha reportado principalmente la presencia de triterpenos pentacíclicos. La propiedad captadora de radicales libres se realizó utilizando el ensayo DPPH y por reducción de hierro (FRAP), donde se revelan que el extracto formado por etanol: agua (70:30) tiene actividad antioxidante ya que suprime en un  $84,21\%$  de los radicales libres DPPH, mientras por el método FRAP reduce a este reactivo en un  $818,18 \mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{L}$ . estos resultados son debido a la presencia de compuestos fenólicos, taninos y esteroides identificados mediante el tamizaje. Además, en el efecto antiproliferativo mediante en efecto citotóxico demostró que esta especie presenta una débil actividad frente a la línea celular DU-145.

Zapata<sup>11</sup>, en el año 2014 en su estudio “Actividad antioxidante, analgésica y antiinflamatoria de metabolitos de la flora nativa de la península de Yucatán”, nos muestra a otras especies como *Cnidoscolus souzae*, *spinusus* y *aconitifolius*. Es preciso mencionar que estas especies se encuentran distribuidas en su mayoría en la extensión de Yucatán, el cual ha venido siendo utilizada como tratamiento de malestares reumáticas, se ha determinado que hay presencia de vitamina C y betacaroteno en mayor cantidad en las hojas. Además, son ricas en minerales (calcio, fósforo, hierro), y algunas vitaminas (tiamina, riboflavina, y niacina). Del material foliar de estas especies se ha evidenciado un flavonoide-C-glicósido y kaemferol y más once tipos de flavonoides, así como derivados de glucósidos como la linamarina una de las principales formas de glucósidos cianogénicos. Determinó la actividad antioxidante de hojas, tallos y raíces de *Cnidoscolus souzae*, por el método de captación de radical libre del DPPH expresado como  $\text{IC}_{50}$  (mg/mL) dando como resultado  $2,188 \pm 0,24$ ;  $4,384 \pm 0,38$  y  $1,578 \pm 0,02$  respectivamente; siendo así, que las raíces presentan mayor actividad antioxidante.

Bautista<sup>12</sup>, en el año 2010 en su investigación “Determinación de los metabolitos secundarios de *Cnidocolus basiacanthus* y *Jatropha macrantha* para su validación y uso en el Perú”, mediante la marcha fitoquímica preliminar reporta en la especie *Cnidocolus basiacanthus* la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, esteroides, flavonoides y taninos, siendo los dos primeros en mayor proporción.

Tinco<sup>13</sup>, en el año 2010 en su trabajo de investigación “Efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll. Arg."huanarpo macho" en ratas con inducción de disfunción eréctil”, siendo esta planta perteneciente a la familia Euphorbiaceae en el tamizaje fitoquímico realizado se observó el contenido de fenoles, flavonoides, alcaloides, triterpenos, taninos, lactonas, cumarinas y catequinas. Además, se ha comprobado que el extracto metanólico de la planta presenta efecto modulador sobre la erección en ratas inducidas a disfunción eréctil, siendo así la dosis efectiva media (DEM) de 157,1 mg/Kg.

Musa *et al.*<sup>14</sup>, en el año 2016 en su trabajo de investigación “Efecto del extracto de hojas de *Cnidocolous aconitifolius* (Miller) IM Johnston sobre hormonas reproductivas de ratas hembra”, trabajó con 60 ratas albinas hembra que fueron agrupadas en cuatro grupos (de 15 cada una). El grupo I (el control) recibió por vía oral 6,5 ml/kg de agua destilada. Mientras los grupos II, III y IV fueron tratados con el extracto donde recibieron 250 mg/Kg, 500 mg/Kg y 1000 mg/Kg de por peso corporal del extracto, durante 7 días. Los resultados obtenidos muestran que el tamizaje fitoquímico reveló ensayos positivos para fenoles, alcaloides, saponinas, antraquinonas, flobataninos, taninos, triterpenos, esteroides y flavonoides. Llegó a la conclusión que las alteraciones en las hormonas reproductivas de rata hembra por el extracto son producto del efecto adverso sobre la maduración y ovulación de los folículos, el extracto puede afectar la fertilidad y la concepción en ratas hembra. Por lo tanto, el extracto de hoja de *Cnidocolous aconitifolius* puede explorarse como un anticonceptivo femenino.

Con estas investigaciones podemos mencionar que los metabolitos secundarios presentes en las plantas, cumplen roles importantes como actuar como antioxidantes, a su vez los antioxidantes influyen en la calidad y cantidad de las distintas células, en este caso las células sexuales la cual expresamos en la cantidad de hormonas sexuales evaluadas; ya que los antioxidantes contribuyen al equilibrio celular actuando contra los radicales libres porque la acción de ciertos

compuestos como los flavonoides, saponinas, fenoles, entre otras, hace que incrementen o disminuyan significativamente.

## **2.2. *Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr.**

### **2.2.1. Clasificación taxonómica**

División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Rosidae
Orden	: Euphorbiales
Familia	: Euphorbiaceae
Género	: <i>Cnidoscolus</i>
Especie	: <i>Cnidoscolus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr.
NV	: “huanarpo hembra.”

**Fuente:** Herbario San Marcos (USM) del Museo de Historia Natural, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, deja constancia N°021-USM-MHN-2022, nombre vulgar: “huanarpo hembra”, determinado por: Mag. Hamilton Beltrán Santiago, asimismo la constancia enviada por la bióloga Aucasime Medina Laura, experta en clasificación sistemática de plantas UNSCH 2022. (Anexo1).



Figura 1. *Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Lugar: centro poblado de Ninabamba, distrito de Ocros, de la provincia de Huamanga.

### **2.2.2. Descripción del género *Cnidoscolus***

La variedad *Cnidoscolus* cuenta con más de noventa y nueve tipos de especies que están dispersas desde norteamericana hasta el país argentino, siendo México y Brasil los lugares que concentran la mayor diversidad de especies, este género

se identifica por los tricomas presentes en toda la planta, el aspecto de glándulas en la unión de los pecíolos y las láminas, y las hojas generalmente son lobadas. Inicialmente esta especie estaba incluida en el género *Jatropha*, pero al tener una única cáliz y corola, los “cabellos glandulares” agudas y entre otras características fue considerado como un género independiente.<sup>15</sup>

Entre las especies del género *Cnidoscolus* tenemos los siguientes: *chayamansa*, *urens*, *aconitifolius* y *multilobus*.<sup>6</sup>

### **2.2.3. Ubicación geográfica y hábitat**

*Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” crece entre los 1500 y 2600 m.s.n.m. su desarrollo se lleva a cabo en suelo árido y semiárido; no necesita suelo agrícola. En época de lluvia, las hojas y tallos tienden a tornarse intensamente de color verde, pero aún no poseen flores; por el contrario en tiempos de sequía, inicia la floración abundante y los tallos presentan una coloración amarilla.

### **2.2.4. Descripción botánica**

*Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”, es un arbusto de aproximadamente 1,5 a 2,0 m de altura, es caracterizado por ser endémico, latente, monoico, con presencia de grandes pelos urticantes. La raíz es pivotante y se asemeja a un cono (conoidea), las ramas presentan un revestimiento de regular espesor. Los tallos son aéreos, leñosos, ramificados, tienden a ser más gruesas hacia la base, presenta ramas carnosas las cuales están visiblemente tallados por protuberancias tipo “cayos”, las cuales son cicatrices del peciolo caído, son laticíferos. Las hojas son simples, alternas, largamente pecioladas, palmadas con tres lóbulos ovaladas, aproximadamente miden de 8 a 10 cm de largo y 9 a 12 cm de ancho. Presenta flores blancas distribuidas en inflorescencias asimétricas, unisexuales, con hojas modificadas vellosas, caedizos, disco presente; ovario trilobular; en su base presenta estilos soldados, dicotómicamente divididos. El tipo de fruto es en cápsula, urticante y elíptica que se divide en tres mericarpos bivalvos con semillas carunculadas y llanas, oblongas de color pardo oscuro.<sup>13,15</sup>

### **2.2.5. Composición química**

La investigación de la composición química y contenido de metabolitos secundarios de este género es aún escasa y a la fecha se han investigado algunas

especies. En *Cnidoscolus aconitifolius* se reportan el contenido de fenoles, saponinas, glucósidos cardiotónicos, presencia de alcaloides, ácidos grasos, esteroides, triterpenos, flavonoides, terpenos, taninos y antraquinonas. En la especie de *Cnidoscolus chayamansa* se ha descrito la presencia de ácido gálico, catequinas, ácido protocatéquico, rutina, vitaminas (niacina, tiamina, riboflavina, A y C, ), minerales (calcio, hierro, potasio, magnesio, sodio, fósforo, manganeso, cobre y zinc); flavonoides, glucósidos cianogénicos, esteroides, cumarinas y astragalina.<sup>6</sup>

### **2.2.6. Usos tradicionales**

Se tiene conocimiento que algunas hojas de variedades del género *Cnidoscolus* son de uso alimentario, también son usados para tratar enfermedades como cálculos renales o trastornos circulatorios, en el caso de *Cnidoscolus spp.*, es utilizado en terapia herbal para atenuar dolores, inflamaciones, infecciones, afecciones renales, y hasta oncológicas. En una revisión bibliográfica se da notar la calidad medicinal y nutricional de *C. chayamansa*, la cual pertenece a la especie con principales actividades antioxidante, hipoglucemiante, anticancerígena, antiinflamatoria, hepatoprotectora, cardioprotectora y afecciones del sistema inmunológico.<sup>15, 16</sup>

Por otra parte, tenemos a la especie *C. multilobus* que contiene un látex el cual es usada para tratar dolor de muelas, mal de aire, mordeduras de perro, infecciones vaginales y transmisión sexual, sarampión, erisipela, como antirreumático y antihemorrágico, además otra especie como *C. urens*, conocida como "mala mujer", se utiliza para curar ITS, lumbalgia, picaduras de escorpiones, estimulante para la fabricación de leche materna durante la lactancia, disminuir la grasa de la sangre, alcoholismo, como laxante y diurético.<sup>6</sup>

Los usos tradicionales atribuidos a *Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" en la localidad recolectada es usada por sus propiedades afrodisíacas, como un potente reconstituyente sexual.

### **2.3. Radicales libres**

Los radicales libres son moléculas que tienen un electrón desapareado en su orbital más externo, es por esto que tienen la capacidad de una reacción muy elevada, produciendo en sistemas biológicos cambios en la composición química y/o estructura de los elementos celulares que los hace incompatibles con la vida.<sup>17</sup> Estas especies químicas se generan en la célula mediante reacciones de

transferencia electrónica, donde puede haber o no la participación de enzimas, pero están mediadas por moléculas tipo metálicas (iones); como tenemos al radical hidróxilo ( $\text{OH}^\bullet$ ) que es formado cuando el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) entra en contacto con iones cobre ( $\text{Cu}^{+2}$ ) o hierro ( $\text{Fe}^{+2}$ ); ya que el compuesto químico y los metales están presentes en el hombre.<sup>18</sup>

#### **2.4. Origen de radicales libres**

**Origen endógenas:** son obtenidos por la respiración aeróbica mitocondrial donde esta estructura de la célula consume oxígeno ( $\text{O}_2$ ) reduciéndolo en varios procesos a  $\text{H}_2\text{O}$  así generando subproductos ( $\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\text{OH}^\bullet$ ). Otra fuente es el sistema inmunitario mediada por fagocitos (leucocitos, neutrófilos, macrófagos y eosinófilos) que ejercen a través de una respuesta oxidativa al activarse por medio de proinflamatorios que son productores inmediatos de grandes cantidades de oxígeno, peróxido de hidrógeno, hidróxidos y óxido nítrico.<sup>19</sup>

**Origen exógenas:** son la radiación UV, rayos X y gamma, las sales de metales (Fe y Cu) las cuales originan los radicales libres a partir de peróxidos (reacción de Fenton), alimentos ingeridos en nuestra dieta (pueden contener metales de transición, aldehídos, peróxidos, ácidos grasos oxidados).<sup>19</sup>

#### **2.5. Estrés oxidativo**

Proceso donde hay un incremento (desequilibrio) de los radicales libres y los agentes antioxidantes, donde se presentan reacciones químicas con proteínas, lípidos y material genético (ADN) provocando daño celular irreversible, daño al tejido y posteriormente a la eventual muerte del material celular.<sup>20</sup>

Se tiene conocimiento que el estrés oxidativo (EO) tiene una contribución significativa en el desarrollo de distintas enfermedades como: artritis, vasculitis, glomerulonefritis, lupus eritematoso y síndrome de distrés respiratorio, padecimientos del corazón, embolia cerebral, SIDA, enfisema, úlceras gástricas, hipertensión, preeclampsia, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, atrofia muscular, alcoholismo, enfermedades relacionadas con el tabaquismo, entre muchas otras.<sup>21</sup>

#### **2.6. Mecanismo de los oxidantes**

Este proceso está enlazado a su origen, siguiendo una serie de reacciones en cadena, donde una molécula anteriormente alterada y reactiva es capaz de reaccionar con otra molécula de tipo no reactiva, conllevando a la formación de un radical capaz de generar daño celular. Por otra parte, los lipoperóxidos se generan

cuando hay agresión de radicales libres de ERO a las membranas celulares, proceso conocido como peroxidación lipídica. La agresión de estas especies reactivas al interior de la célula forma parte esencial del daño o alteración, ya que desestabilizan la estructura y función de las células juntamente a sus constituyentes, conduciendo a la apoptosis o muerte celular.<sup>22</sup>

### **2.7. Antioxidantes**

Son sustancias que retrasan o previenen la oxidación de moléculas a pesar de estar presente en cantidades reducidas que estas. Nuestros órganos y células tienen sistemas antioxidantes que neutralizan los radicales libres, estas pueden ser enzimáticos (glutación peroxidasa, SOD y catalasa) que actúan como primera barrera protectora, y las no enzimáticos (vitamina E, vitamina C, glutación, ácido úrico y carotenoides).<sup>23</sup>

### **2.8. Compuestos fenólicos**

Son metabolitos que contienen un grupo fenol (anillo aromático con un grupo hidróxilo), también se les conoce como polifenoles o fenilpropanoides, son compuestos primordiales para el desarrollo de las plantas que actúan como barrera protectora de autodefensa frente a agentes dañinos o patógenos, las cuales son secretadas en condiciones de estrés, radiaciones UV, infecciones, entre otros. Estos metabolitos tienen una estructura idónea para eliminar radicales libres, según los estudios está comprobado que los fenoles son antioxidantes más efectivos que la vitamina E y el ácido ascórbico. Los compuestos fenólicos son numerosos y tenemos: flavonoles, flavononas, taninos, flavonas, estilbenos, chalconas, isoflavonas, lignanos, etc.<sup>24, 25</sup>

Químicamente está compuesto por un grupo diverso que abarca desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos, hasta polímeros complejos como los taninos condensados y la lignina. Estos compuestos fenólicos son sintetizados mediante la vía del ácido shikímico en la llamada “ruta de los fenilpropanoides o del ácido shikímico”, mediante el cual las especies vegetales biosintetizan más de 8000 compuestos fenólicos y polifenólicos cuya característica más relevante es su comportamiento antioxidante.<sup>25</sup>

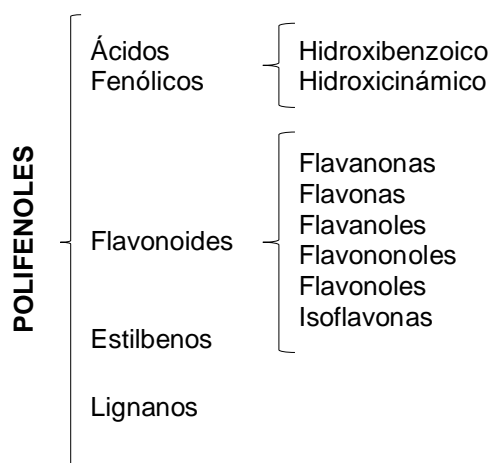


Figura 2. Clasificación de compuestos fenólicos.<sup>26</sup>

### 2.8.1. Ácidos fenólicos

Comprende un grupo que poseen un grupo carbonilo funcional, se clasifican en derivados de los ácidos hidroxinámicos e hidroxibenzoicos. El primer grupo se caracterizan por la presencia de un grupo carboxilo sustituido en un fenol, frecuentemente se encuentra enlazado a otras estructuras de los alimentos y forman parte de componentes de estructuras complejas como taninos hidrolizables y ligninas; en este grupo se incluyen a los ácidos p-hidroxibenzoico, gálico, protocatéquico, vanílico. Mientras que los ácidos hidroxicinámicos en su estructura presentan metilaciones e hidroxilaciones, estos tienen un anillo fenil y su cadena lateral de tres carbonos y son denominadas fenilpropanoides, entre ellos tenemos a los ácidos cumárico, cafeico, ferúlico y cimánico.<sup>27, 28</sup>

### 2.8.2. Flavonoides

Son compuestos que se distribuyen en las hojas, flores, semillas, cortezas y fruto de las plantas, hasta el momento se han identificado más de cuatro mil flavonoides. Estos metabolitos son responsables de brindar el color a las hojas, flores y frutos de las plantas, además, cumplen una función protectora frente a radiaciones UV, parásitos fúngicos, patógenos, herbívoros y daño celular oxidativo.<sup>29</sup>

Estos metabolitos secundarios se hallan en formas esterificadas o glicosiladas, correspondiendo así a compuestos diarilpropánicos, es decir, su estructura es del tipo C6-C3-C6, que tienen dos anillos aromáticos cíclicos (A y B) los cuales se encuentran unidos mediante tres átomos de carbono ciclada a través de un oxígeno. Los flavonoides están denotados por un grupo muy extenso de compuestos polifenólicos, se caracterizan por tener un núcleo 2-fenil-bencil-γ-pirona. Cuya estructura primaria puede sufrir distintas transformaciones lo que da como



resultado a una variedad estructural como flavanoles, auronas, isoflavonas, flavonas, antocianinas y flavonoles.<sup>30</sup>

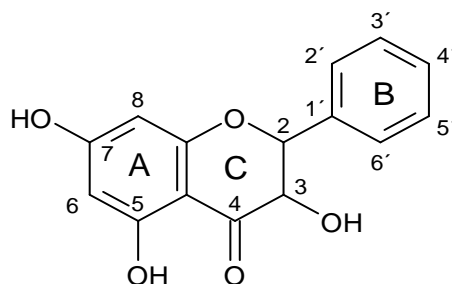


Figura 3. Núcleo estructural de los flavonoides.<sup>30</sup>

### 2.9. Actividad antioxidante de los polifenoles

Los compuestos polifenólicos tienen la propiedad de actuar como antioxidantes, por ser capaces de prevenir la oxidación, esta dependerá de la oxido-reducción del grupo hidroxifenólico y la estructura química, su interacción entre ellos, lo que puede producir efectos sinérgicos o antagónicos. Los polifenoles al actuar como antioxidantes protegen al organismo de los ataques de radicales libres, moléculas que en su estructura atómica tienen un electrón no apareado, altamente reactivo e inestables generando así reacciones en cadena (RÉDOX).<sup>22</sup>

### 2.10. Efecto de los antioxidantes sobre la salud

El proceso de envejecimiento se genera por una respuesta genética de cada organismo humano, y por otra parte por un proceso no hereditario el cual está relacionado con el estrés oxidativo y los radicales libres. Las ERO y los radicales libres tienden a alterar la membrana interna y también al ADN mitocondrial conllevando a la mayor producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), generando mayor daño y en consecuencia el incremento del estrés oxidativo, al producirse esto se pierde el equilibrio de la célula, ya que es muy susceptible al ataque de los radicales libres.<sup>5</sup>

Se han estudiado diversas patologías y su estrecha relación con el desbalance del sistema oxidativo, enfermedades como: gástricas, cardiovasculares, oncológicas, respiratorias, sistema nervioso y endocrinos. Las alteraciones cardiovasculares tienen estrecha relación con la oxidación de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) y colesterol, estas son consideradas "llave maestra" en su desarrollo. En caso del cáncer se señala que si los RL afectan el ADN se forman mutaciones, luego transformándose así en células cancerosas, de este modo se señala la relación que existe del desarrollo de cáncer gástrico con el estrés oxidativo. Por

otra parte, el metabolismo de glutatión, cuando se ve afectado se asocia con enfermedades neurodegenerativas del SNC.<sup>5</sup>

### **2.11. Métodos para determinar la actividad antioxidante**

Se basa en comprobar el daño oxidativo generado a un sustrato (que es capaz de oxidarse) por un agente oxidante, daño que es reducido o inhibido en presencia de un antioxidante. Existen diversos métodos los cuales se fundamentan en la cantidad de productos desarrollados después del proceso de oxidación, métodos que se distinguen en el agente oxidante, sustrato empleado, tiempo de reacción, técnica instrumental, la sensibilidad, el medio de reacción y su debida interacción de la muestra estudiada. La mayoría de las técnicas usadas no emplean especies radicales de significado biológico, sino radicales que son oxidantes iniciadores ajenos al organismo; por ejemplo, el 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) o el 2,2-azobis-2-methylpropionamida (AAPH).<sup>31</sup>

#### **2.11.1. Determinación de fenoles totales**

Para determinar el contenido de polifenoles se utiliza el ensayo de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton *et al*, la cual se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una reacción tipo rédox con coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm en base a una curva patrón de ácido gálico. Este reactivo comprende de la combinación de molibdato sódico y wolframato sódico en medio ácido (ácido fosfórico) con una típica coloración amarilla formándose así ácido fosfomolibdotúngstico, que posteriormente reaccionan con los polifenoles reducidos por los grupos fenólicos contenidos en la muestra dando una coloración azul intenso, el cual se mide a través de técnicas espectrofotométricas. Es un método preciso y sensible, que puede tener variaciones, relacionadas principalmente a los volúmenes utilizados de la muestra, la concentración de los reactivos y el tiempo de reacción. Para su determinación se utiliza al ácido gálico como patrón.<sup>32, 33</sup>

#### **2.11.2. Determinación de flavonoides**

Para la determinación de flavonoides se realiza por el método colorimétrico del cloruro de aluminio, el cual es ampliamente usado que se basa en el rastreo de complejos formados entre el aluminio ( $Al_3$ ) y los grupos hidróxilo en medio alcalino, en esta reacción se observa que el cloruro de aluminio forma complejos con los grupos hidróxilo de los anillos (A o B), dando una coloración característica naranja

melón. Los metabolitos secundarios de las muestras reaccionan con el cloruro de aluminio, susceptible a ser determinada espectrofotométricamente a 415 nm en base a una curva patrón de quercetina.<sup>34</sup>

### 2.11.3. Capacidad antioxidante del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH)

Este ensayo fue descrito en 1995 por Brand-Williams *et al.* se describe como un método de espectrofotometría UV, donde se genera el blanqueamiento del radical DPPH, donde este adquiere un hidrógeno del antioxidante para formar DPPH-H con una coloración amarilla, se puede observar que el efecto antioxidante es proporcional a la decoloración del DPPH. El efecto antioxidante puede ser fácilmente evaluado siguiendo la pérdida de absorción UV a 517 nm, donde los resultados son expresados como la capacidad antioxidante equivalente a trolox (TEAC).<sup>35</sup>

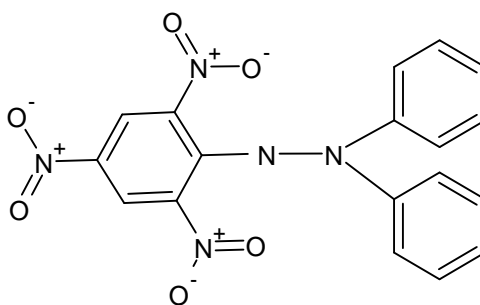


Figura 4. Estructura química del radical libre DPPH.<sup>35</sup>

### 2.11.4. Método del ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS<sup>0+</sup>)

Es una técnica propuesta en 1993 por Miller, N.J. *et al.*, donde el ABTS tiene la capacidad de secuestrar aniones radicales, se conoce que ABTS es oxidado por radicales tipo peróxidos (persulfato de potasio, peróxido de hidrógeno, entre otros) esto se lleva a cabo hasta formar el catión radical ABTS<sup>+</sup> el cual muestra una coloración verde-azul. Y cuando se evalúan las muestras o extractos la reacción es observada mediante un blanqueamiento del ABTS<sup>+</sup>, es una reacción que depende de la concentración de compuestos antioxidantes contenidas en la muestra. Esta reacción se determina por espectrofotometría a una longitud de onda de 734 nm, donde la absorbancia se compara con la del trolox (un análogo sintético y soluble de la vitamina E) y se expresa como capacidad antioxidante equivalente de trolox (TEAC), este ensayo tiene la ventaja de ser rápido, reproducible y de poder realizarse tanto en muestras hidrosolubles como liposolubles, además de ello nos permite seleccionar el disolvente correcto.<sup>35, 36</sup>

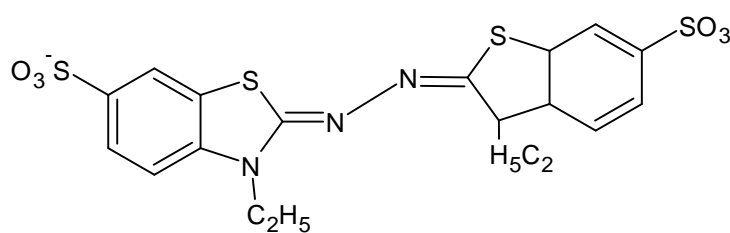


Figura 5. Estructura química del ABTS<sup>+</sup>.<sup>35</sup>

### 2.11.5. Método de reducción del hierro (FRAP)

Este método se basa en la reducción del hierro férrico ( $\text{Fe}^{+3}$ ) a ferroso ( $\text{Fe}^{+2}$ ), por un antioxidante en condiciones ácidas, es un tipo de reacción donde se determina a la acción quelante que tiene el cloruro de 2,4,6-tripiridil-triazina (TPTZ) frente al hierro, formando así un complejo coloreado azul-morado (complejo  $\text{Fe}^{+3}$ -TPTZ), este se determina por espectrofotometría a una longitud de onda de 595 nm, donde de un color morado pasa a una coloración amarilla teniendo como producto el complejo  $\text{Fe}^{+2}$ -TPTZ. Comprende un método simple que nos permite obtener resultados de forma inmediata, como curva estándar es usado al ácido ascórbico o el trolox, ya que estos tienen la capacidad de ser antioxidantes hidrosolubles.<sup>35</sup>

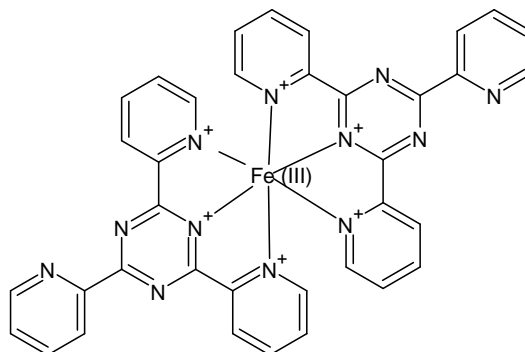


Figura 6. Estructura del complejo coloreado  $\text{Fe}^{+3}$ -TPTZ.<sup>35</sup>

### 2.12. Hormonas sexuales y fertilidad

Las hormonas están definidas como “aquella sustancia secretada en un limitado número de tejidos y que es capaz de actuar como mediador químico de tejidos blanco o diana”. Las hormonas de tipo sexuales se desarrollan de forma natural en los ovarios y testículos, cuya liberación esta mediada por el eje hipotálamo-pituitario-gonadal, cumplen funciones importantes como intervenir en el desarrollo de los órganos sexuales, la ovulación, espermatogénesis, mantenimiento del embarazo. Dentro de las principales hormonas tenemos a los estrógenos, la testosterona, progesterona, FSH y LH.<sup>37</sup>

### **2.12.1. Hormona Folículo estimulante (FSH)**

Es una hormona de tipo gonadotrópico, de tipo importante porque nos permite detectar problemas de fertilidad o esterilidad, se encuentra presente en varones y mujeres, cumple un rol importante en el proceso reproductivo ya que estimula la maduración de óvulos y espermatozoides, se liberan en el hipotálamo mediante la estimulación de la glándula pituitaria a través de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH). La FSH ejerce su acción de manera rápida, irreversible y específica en el receptor de las células de la granulosa ovárica, las cuales son inducidos por la propia FSH; el proceso comprende a la unión a receptores determinados, luego se activa los segundos mensajeros como el adenil ciclasa (AC) dando lugar al paso de ATP (adenosín trifosfato) a AMPc (adenosín monofosfato cíclico), luego el AMPc se une a la proteínquinasa y finalmente se forman las hormonas esteroideas (andrógenos, estrógenos y progesterona).<sup>38</sup>

El FSH en mujeres a través de la acción del GnRH permite la estimulación y crecimiento de los folículos ováricos (no maduras), cuando estos maduran uno de ellos se convierte en dominante (fenómeno que se produce en cada ciclo menstrual) cuando los folículos maduran uno de ellos pasa a ser el dominante y es liberado provocando una depleción de los niveles de FSH. En varones cumple la función de la espermatogénesis, estimulando la producción de los espermatozoides en las células Sertori de los testículos. <sup>38</sup>

### **2.12.2. Hormona Luteinizante (LH)**

Esta hormona es secretada por las células gonadotrópicas a través de un estímulo pulsátil generados por la GnRH, su liberación está regulada negativamente por la retroalimentación de los esteroides gonadales (progesterona y estrógenos) y la inhibina. Durante el ciclo menstrual hay una variación de esta hormona siguiendo el siguiente proceso: A. Fase folicular temprana, se observa el incremento de LH porque hay estimulación de la FSH sobre los receptores de LH. B. fase folicular media, la cantidad de LH se mantiene constantes, o por ocasiones se incrementan de forma discreta. C. Fase folicular tardía, la concentración de LH y FSH se mantienen invariables y luego empiezan a elevarse hasta que finalmente la hormona luteinizante alcanza su máxima concentración (superior al FSH). D. Fase lútea, se produce la disminución de estas hormonas. En los varones se encarga de estimular a las células Leydig para la biosíntesis de testosterona.<sup>38</sup>

### **2.12.3. Testosterona**

La testosterona es una "hormona masculina" donde más del 95 % es sintetizada en las células de Leydig en los testículos y en menor cantidad en los ovarios (exactamente en las células tecales), la liberación de este andrógeno está controlada por el eje hipotálamo-hipófisis-células de Leydig. Tiene funciones importantes: en hembras es uno de los precursores para la síntesis de estradiol mediante la enzima aromatasa.<sup>38</sup>

### **2.12.4. Progesterona**

Es una hormona femenina tipo esteroide, pertenece a un grupo de hormonas denominadas progestágenos, está estrechamente involucrada en el ciclo menstrual, y el embarazo, participa como mediador metabólico para la síntesis de otros esteroides endógenos, incluidas las hormonas sexuales y corticoesteroides, diferenciación de glándulas mamarias y es secretada durante toda la vida de la mujer. Durante el embarazo la progesterona se encarga de preparar el útero para la implantación, preparación del moco cervical y epitelio vaginal, hace que sea de consistencia espesa e impidiendo el paso de los espermatozoides. Por el contrario cuando hay ausencia de embarazo los niveles disminuyen, por lo tanto, se produce la menstruación, por otro lado se encarga de la contractilidad de la musculatura lisa uterina, inhibe la lactancia durante el embarazo; después del parto se produce la caída de los niveles de progesterona conllevando a la producción de leche materna.<sup>39</sup>

### **2.12.5. Estradiol**

Es una hormona de tipo estrógeno que está presente en varones y mujeres, la cual se obtiene a partir de andrógenos a través de la enzima aromatasa. En mujeres en edad reproductiva los niveles son más altos. Estas hormonas favorecen la determinación de las características sexuales secundarias femeninas, participan en la regulación del ciclo menstrual, embarazo y menopausia. En varones se sintetiza a partir de la testosterona, se encarga de regular ciertas funciones del sistema reproductivo para que puedan madurar los gametos masculinos, este proceso es considerado necesario para una libido saludable.<sup>39</sup>

Los estrógenos tienen propiedades antioxidantes, ya que al pasar los años se genera una pérdida de los niveles de hormonas sexuales ocurriendo así el incremento del estrés oxidativo donde se puede observar aumento de producción

de aniones superóxido y que existe una mayor actividad de la enzima superóxido dismutasa para tartar de eliminar el incremento.<sup>39</sup>

### **2.13. Metoclopramida**

Es un medicamento sintético que es ampliamente utilizado como antiemético y procinético, es un derivado del ácido paraaminobenzoico, considerado como uno de los potentes inhibidores de la dopamina ( $D_2$ ), cuyo mecanismo de acción consiste en el bloqueo de los receptores dopaminérgicos tanto centrales como periféricos (plexo mientérico) facilitando así la acción colinérgica en la parte proximal del tubo digestivo.<sup>40</sup> Estimula la motilidad gastrointestinal acelerando la evacuación, muy eficaz para náuseas, vómitos que se asocian con problemas gastrointestinales, incrementa la peristalsis, también genera el incremento del tono del nuestro esfínter esofágico inferior oponiéndose al reflujo gastroesofágico.<sup>41</sup>

Ciertos estudios han mencionado que la metoclopramida no afecta la capacidad de la fertilidad de las personas, pero si hubo reportes de problemas o alteraciones menstruales y de galactorrea (en ausencia de lactancia) cuando se ha consumido este medicamento, estos problemas como la alteración menstrual puede traer consigo dificultades para la fertilidad en el caso de las mujeres, ya que no hay un correcto funcionamiento o un equilibrio de las hormonas, además, se menciona que el mecanismo de acción sobre los receptores  $D_2$  del sistema nervioso central genera un incremento de la acción de la glándula de la hipófisis haciendo que aumente la secreción de la hormona prolactina.<sup>42</sup>

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación

Esta investigación se desarrolló en los laboratorios de Farmacología y Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de abril - noviembre de 2022.

#### 3.2. Población y muestra

##### 3.2.1. Población

Hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” que fueron recolectadas en el distrito de Ocros a 2073 m.s.n.m. de la región de Ayacucho.

##### 3.2.2. Muestra

700 g de hojas y 800 g de tallos secos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” que fueron recolectadas en el mes de febrero de 2022 en la localidad de Ninabamba del distrito de Ocros a 2073 m.s.n.m. del departamento de Ayacucho. El muestreo realizado fue por conveniencia.

##### 3.2.3. Unidades experimentales

Sesenta y cuatro ratas Holtzman, hembras y machos adultos, de 180 g a 220 g de peso, que fueron adquiridas en el Instituto Nacional de Salud (INS) Lima – Perú.

#### 3.3. Diseño de la metodología y recolección de datos

##### 3.3.1. Proceso de recolección e identificación botánica de la muestra

Las hojas y los tallos fueron recolectados en el distrito de Ocros, la cuales fueron colocadas en una bolsa de papel kraft; seguidamente fueron trasladadas a los ambientes del laboratorio de farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. La determinación botánica de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” fue realizada en el Herbario San Marcos (USM) del Museo de Historia Natural, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, quien deja constancia N°021-USM-MHN-2022, con nombre vulgar: huanarpo



hembra, determinado por: Mag. Hamilton Beltrán Santiago, asimismo fue realizado por la Blga. Laura Aucasime Medina, la cual se realizó según el sistema de clasificación taxonómica de Cronquist y col.<sup>43</sup> (Anexo 1)

### **3.3.2. Selección y preparación de la muestra**

Se procedió a seleccionar las hojas y tallos de “huanarpo hembra” en buenas condiciones de conservación, para obtener un buen secado se colocaron sobre bolsas de papel kraft, la cual fue situada a temperatura ambiente y protegidos de la luz solar. Este procedimiento fue monitorizado por las 3 semanas, durante ese tiempo de secado de las muestras se realizó constantemente el cambio de papel Kraft, se volteó las muestras para obtener un secado uniforme y evitar su descomposición. Después del secado completo de las muestras, se procedió a ser trituradas por acción mecánica con la ayuda de un molino manual hasta obtener un polvo, luego fueron guardadas en frascos ámbar a temperatura ambiente. (Anexo 2)

### **3.3.3. Procedimiento de obtención del extracto atomizado**

Se realizó de manera individual para las hojas y los tallos, primero se realizó la maceración de 700 g de hojas y 800 g de tallos secos y pulverizados en envases individuales de vidrio color ámbar, para lo cual se utilizó 1 L de etanol al 70% por un tiempo de 15 días con agitación constante de 15 min al día. Luego se procedió al filtrado de las muestras con la ayuda de una bomba al vacío. Posteriormente, se pasó a concentrar en el rotavapor (R300 BUCHI), luego se agregó 1 L de agua destilada. Finalmente, es llevado al secador por pulverización de laboratorio OLT-SD8000B del Laboratorio de Investigación Farmacológica obteniéndose un polvo bien fino. (Anexo 2)

### **3.3.4. Screening fitoquímico del extracto atomizado**

En este proceso se realizó la dilución de 1 gramo de muestras de hojas y tallos (de manera independiente) con 50 ml de alcohol etílico al 70 %, luego se rotularon y se dividió en porciones de dos ml en 13 tubos de ensayo. Los ensayos y/o pruebas de precipitación, coloración, formación de espuma y desprendimiento de gases, se hicieron conforme a la metodología detallada por Miranda y Cuéllar.<sup>44</sup> (Anexo 4 y 5).

### **3.4. Determinación del contenido de fenoles totales**

La determinación de contenido de fenoles totales se realizó por la metodología que fue descrito por Swain y Hillis<sup>45</sup>, retocado por Thaipong y col.<sup>46</sup>, acondicionado a las condiciones de nuestro laboratorio. Para el ensayo se preparó la muestra

pesando 100 mg de extracto atomizado en 100 mL en metanol obteniéndose una concentración de 1mg/mL. Se tomó 150  $\mu$ L de la muestra, se sumó 2400  $\mu$ L de agua destilada, posteriormente se añadió 150  $\mu$ L de reactivo de Folin-Ciocalteu 0,25 N, se agitó en el vortex durante 5 minutos y luego se dejó reaccionar por 3 minutos, finalmente se agregó 300  $\mu$ L de carbonato de sodio ( $\text{NaCO}_3$ ) 1N luego se agitó por 5 minutos en vortex. Dicha mezcla se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente (20 °C) por un tiempo de 2 horas. Se leyó la absorbancia a 725 nm utilizando un espectrofotómetro UV-VIS GENESYS 10. Se realizó una curva de calibración que fue preparada con ácido gálico (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0; 30,0  $\mu$ g/mL). Las lecturas se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por g de extracto (mg GAE/g de extracto) (Anexo 4).

### **3.5. Determinación del contenido de flavonoides**

Se realizó por la técnica del cloruro de aluminio descrito por Zhishen y col.<sup>47</sup> para el cual se preparó la muestra pesando 100 mg de extracto atomizado en 100 mL en metanol obteniéndose una concentración de 1mg/mL, del cual se tomó 500  $\mu$ L de la muestra, se agregó 500  $\mu$ L de agua destilada, luego se añadió 150  $\mu$ L de nitrito de sodio ( $\text{NaNO}_2$ ) al 5%, se agitó durante 5 minutos en el vortex y se dejó reaccionar también durante 6 minutos. Después se sumó 150  $\mu$ L de cloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ) al 10% y se homogenizó en el vortex, dejando esto en reposo durante 6 minutos. Finalmente, se añadió 2000  $\mu$ L de hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ) al 4% y se agregó 1700  $\mu$ L de agua destilada, homogenizando en el vortex se dejó en reposo protegido de la luz a temperatura ambiente, esto durante 15 minutos. Para terminar, se procedió la lectura de la absorbancia a 510 nm utilizando un espectrofotómetro UV-VIS GENESYS 10. La curva de calibración se realizó con el patrón quercetina (40,0; 80,0; 120,0; 160,0; 200,0  $\mu$ g/mL). Todas las lecturas se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como mg equivalentes de quercetina por g de extracto (mg QE/g de extracto). (Anexo 5)

### **3.6. Evaluación de la capacidad antioxidante**

#### **3.6.1. Estudio por el método DPPH (secuestro del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo)**

Se realizó por la técnica planteada por Brand-Williams y col.<sup>48</sup> con transformaciones realizadas por Thaipong y col.<sup>46</sup> para determinar la capacidad captadora del radical libre DPPH se preparó la muestra pesando 100 mg de extracto atomizado en 100 mL en metanol obteniéndose una concentración de

1mg/mL, del cual se colocó 150 µL de muestra y se añadió 2850 µL de la solución de trabajo (ST) del DPPH ajustado la absorbancia a  $1,1 \pm 0,02$  nm, dejando reaccionar esta muestra en la oscuridad por un tiempo de 24 horas protegidos de la luz, luego se procedió a leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 515 nm, utilizando un espectrofotómetro UV-VIS GENESYS 10. (Anexo 6)

Se calculó el porcentaje del secuestro del radical libre.<sup>49, 50</sup>

$$\% \text{ de actividad secuestradora de DPPH} = \left[ \frac{A_{DPPH} - A_{MP}}{A_{DPPH}} \right] \times 100$$

Donde:

$A_{DPPH}$ : absorbancia del DPPH.

$A_{MP}$ : absorbancia de la muestra estudiada.

Del mismo modo, se realizó una curva de calibración con el estándar trolox (100 – 800 µmoles), los resultados fueron indicados como µmoles equivalentes a trolox por gramo de extracto (µmol ET/g de extracto).

Luego se estableció la concentración inhibitoria 50 ( $IC_{50}$ ) del porcentaje de inhibición del radical DPPH, a concentraciones de 0,25; 0,50; 1,0 y 2,0 mg/mL del extracto atomizado.

### **3.6.2. Estudio por el método ABTS<sup>o+</sup> (secuestro del catión radical del ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico)**

Se ejecutó usando la metodología descrita por Arnao y col.<sup>51</sup>, reformado por Thaipong y col.<sup>46</sup> se preparó la muestra pesando 100 mg de extracto atomizado en 100 mL en metanol obteniéndose una concentración de 1mg/mL. Del cual se dispuso 150 µL de la muestra y se combinó con 2850 µL de la solución de trabajo (ST) de ABTS, previamente ajustado la absorbancia a  $1,1 \pm 0,02$  nm, luego se dejó reaccionar protegido de la luz durante el tiempo de 2 horas, y finalmente se procedió a realizar la lectura de la absorbancia en el espectrofotómetro a 734 nm, esto utilizando un espectrofotómetro UV-VIS GENESYS 10. Los resultados se enunciaron en µmol equivalente de trolox/g de extracto (µmol ET/g de extracto).

Se determinó el porcentaje de secuestro del radical libre.<sup>49, 50</sup>

$$\% \text{ de actividad secuestradora de ABTS} = \left[ \frac{A_{ABTS} - A_{MP}}{A_{ABTS}} \right] \times 100$$

Donde:

$A_{ABTS}$ : absorbancia del ABTS<sup>+</sup>

$A_{MP}$ : absorbancia de la muestra estudiada.

Además, se realizó una curva de calibración con el estándar trolox (50 - 400  $\mu$ moles), los resultados fueron expresados como  $\mu$ moles equivalentes a trolox por gramo de extracto ( $\mu$ mol ET/g de extracto).

Además, se determinó la concentración inhibitoria 50 ( $IC_{50}$ ) del porcentaje de inhibición del radical ABTS, a concentraciones de 0,25; 0,50; 1,0 y 2,0 mg/mL del extracto atomizado.

### **3.6.3. Estudio por el método FRAP (reducción de hierro)**

Se realizó con el procedimiento que fue explicado por Benzie y Strain<sup>52</sup> con ciertas modificaciones elaboradas por Thaipong y col.<sup>46</sup> para el cual se preparó la muestra pesando 100 mg de extracto atomizado en 100 mL en metanol obteniéndose una concentración de 1mg/mL. Se tomó 150  $\mu$ L de la muestra y se adicionó 2850  $\mu$ L de la solución de trabajo del FRAP, la mezcla se dejó en reacción durante media hora, finalmente se leyó la absorbancia a 593 nm utilizando un espectrofotómetro UV-VIS GENESYS 10. Los resultados obtenidos se expresaron en  $\mu$ mol equivalente de trolox/g de extracto ( $\mu$ mol ET/g de extracto).

También, se realizó una curva de calibración con el estándar trolox (50 - 800  $\mu$ moles), los resultados fueron expresados como  $\mu$ moles equivalentes a trolox por gramo de extracto ( $\mu$ mol ET/g de extracto).

### **3.7. Determinación del efecto del extracto atomizado de las hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” sobre la fertilidad en ratas.**

#### **Procedimiento:**

#### **3.7.1. Acondicionamiento de los animales**

Para esta actividad se dispusieron 64 ratas *Holtzman*, machos y hembras adultas con un peso promedio entre 180 a 220 g y en buen estado de salud, los animales fueron obtenidos del Instituto Nacional de Salud de la ciudad de Lima - Perú. Posteriormente fueron acondicionadas en jaulas de crianza, a temperatura ambiente, con un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas, de igual manera recibieron su alimento y agua *ad libitum*. El día de experimentación se privó de agua y alimentos, la administración vía oral se realizó por 18 días.

### 3.7.2. Preparación de los extractos

Se preparó los extractos de hojas y tallos de manera individual a concentraciones de 0,25 %, 0,50 % y 1,0 % del extracto atomizado. De estas suspensiones se tomaron, para su administración, dosis correspondientes a 25, 50 y 100 mg/kg.

### 3.7.3. Administración del extracto

Transcurrido los días de aclimatación las ratas fueron pesados, codificados y distribuidos de acuerdo al sexo (hembras y machos), las cuales se identificaron en los siguientes grupos:

Tabla 1. Distribución de la unidad experimental en grupos para determinar el efecto sobre la fertilidad del extracto atomizado de hojas y tallos.

Grupo	Tratamiento	Cantidad	Sexo	Dosis	Vía
I	E.A de hojas	4	Machos	25 mg/Kg	Oral
II	E.A de hojas	4	Hembras	25 mg/Kg	Oral
III	E.A de hojas	4	Machos	50 mg/Kg	Oral
IV	E.A de hojas	4	Hembras	50 mg/Kg	Oral
V	E.A de hojas	4	Machos	100 mg/Kg	Oral
VI	E.A de hojas	4	Hembras	100 mg/Kg	Oral
VII	E.A de tallos	4	Machos	25 mg/Kg	Oral
VIII	E.A de tallos	4	Hembras	25 mg/Kg	Oral
IX	E.A de tallos	4	Machos	50 mg/Kg	Oral
X	E.A de tallos	4	Hembras	50 mg/Kg	Oral
XI	E.A de tallos	4	Machos	100 mg/Kg	Oral
XII	E.A de tallos	4	Hembras	100 mg/Kg	Oral
XIII	Metoclopramida	4	Machos	15 mg/Kg	Oral
XIV	Metoclopramida	4	Hembras	15 mg/Kg	Oral
XV	Agua destilada	4	Machos	2 mL/Kg	Oral
XVI	Agua destilada	4	Hembras	2 mL/Kg	Oral

EA: extracto atomizado.

Una vez distribuidos en grupos se procedió con la administración de los extractos, la cual se realizó por vía oral con la ayuda de una cánula orogástrica con las dosis indicadas de acuerdo al peso del animal; este procedimiento se realizó durante 18 días.

#### **3.7.4. Dosaje de hormonas**

Culminado la administración de los extractos atomizados, se realizó el dosaje de las hormonas sexuales (FSH, LH, testosterona, estradiol y progesterona) para lo cual se llevó a cabo la recolección de muestras de sangre, estas muestras fueron obtenidos por punción cardiaca, colocándose así en tubos con heparina. Las muestras fueron procesadas empleando el ensayo de inmunofluorescencia en seco, para el cual se utilizó el equipo i-CHROMA III.

Para cada ensayo se tuvieron los siguiente cuidados y pasos:

- Revisar que estén los componentes de i-CHROMA: Cartuchos de prueba sellados, ID Chip, y los tubos de buffer detector.
- Asegurarse que la numeración del lote de los cartuchos de prueba concuerden con los del ID Chip y con el buffer de detección.
- Mantener el cartucho de prueba o casete sellado y el vial de buffer detector (si fue almacenado previamente en el refrigerador) a temperatura ambiente al menos media hora antes de ejecutar el análisis,
- Colocar el cartucho en una superficie plana y limpia.
- Encender el lector i-CHROMA, luego colocar el ID Chip dentro del puerto para ID Chip del lector i-CHROMA, presione la tecla "select". Luego se realizó los procedimientos para cada ensayo.

#### **Dosaje de Hormona Folículo estimulante (FSH)**

Se tomó 75  $\mu$ L de suero con una micropipeta, se añadió al buffer de detección. Se mezcló bien la muestra con el buffer. Luego se tomó 75  $\mu$ L de la mezcla utilizando para ser aplicada sobre el pocillo de muestra del cartucho o casete, se dejó incubar a temperatura ambiente durante o en el bloque térmico durante 15 min. Para iniciar la lectura, se colocó el cartucho en el soporte de i-CHROMA III, se realizó mediante la opción de multipruebas, donde se seleccionó el tiempo de lectura en intervalos de 1 min para cada casete. Una vez colocado, el instrumento comenzará con la lectura de manera automática.<sup>53</sup> Los resultados se observan en la pantalla del equipo y serán expresados en mIU/MI.

#### **Dosaje de Hormona Luteinizante (LH)**

Primero se transfirió 150 $\mu$ l de muestra con la micropipeta al tubo que contiene el buffer detector, cerrar la tapa y homogenizar la muestra sacudiendo 10 veces. Se tomo 75  $\mu$ L de la mezcla de la muestra y se cargó en el pocillo de muestra del cartucho de prueba o casete, incubar en el bloque térmico o a temperatura ambiente por 15 minutos. Para iniciar la lectura, se colocó el cartucho en el soporte

de i-CHROMA III, se realizó mediante la opción de multipruebas, donde se seleccionó el tiempo de lectura en intervalos de 1 min para cada casete. Una vez colocado, el instrumento comenzará con la lectura de manera automática. Los resultados se observaron en la pantalla del equipo y fueron expresados en mIU/MI.<sup>54</sup>

#### **Dosaje de Testosterona**

Se transfirió 30 µL de reactivo desplazante al tubo de mezclado de muestra, luego se colocó 75 µL de muestra con la micropipeta al tubo preparado anteriormente, cerrar la tapa del tubo y mezclar agitando cerca de 10 veces; esta mezcla se debe usar de forma rápida. Luego se incubó a temperatura ambiente o bloque térmico durante 3 minutos. Por otra parte, se tomó 75 µL de la mezcla y se dispensó en el tubo que contiene el buffer detector, mezclar la muestra completamente agitando 10 veces; la mezcla de la muestra debe ser usada inmediatamente. Luego se colocó 75 µL de la muestra de la mezcla y dispensó en el pocillo del casete, se incubó antes de ser insertada en el soporte del equipo, esto a temperatura ambiente o en el bloque térmico por 12 minutos. Para iniciar la lectura, se colocó el cartucho en el soporte de i-CHROMA III, se realizó mediante la opción de multipruebas, donde se seleccionó el tiempo de lectura en intervalos de 3 min para cada casete. Una vez colocado, el instrumento comenzará con la lectura de manera automática. Los resultados se observaron en la pantalla del equipo y fueron expresados en ng/mL.<sup>55</sup>

#### **Dosaje de progesterona**

Primero se transfirió 150 µL de diluyente detector con la micropipeta al tubo detector que contiene gránulos (cuando el gránulo se disuelve completamente en el tubo detector, se convierte en buffer de detección la cual debe ser usado de manera inmediata). Luego se colocó 30 µL de muestra al tubo detector, se mezcló unas 10 veces (la mezcla debe ser utilizada dentro de los 30 segundos, después de agitar 10 veces). Posteriormente se colocó 75 µL de una mezcla de muestra en el casete o cartucho de muestra, incubar a temperatura ambiente o en el bloque térmico a 25 °C durante 15 minutos. Para iniciar la lectura, se colocó el cartucho en el soporte de i-CHROMA III, se realizó mediante la opción de multipruebas, donde se seleccionó el tiempo de lectura en intervalos de 3 min para cada casete. Una vez colocado, el equipo comenzará con la lectura de manera automática, los resultados se observaron en la pantalla del equipo y fueron expresados en nmol/L, ng/mL.<sup>56</sup>

### **Dosaje de estradiol**

Primero se transfirió 25 µL de muestra en el pocillo asignado, se añadió 50 µL del reactivo estradiol al pocillo, agitar durante 20 a 30 segundos para homogenizar por completo. Luego, se cubrió e incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente, se añadió 50 µL de reactivo enzimático de estradiol al pocillo, agitar suavemente la microplaca durante 20 segundos; resguardar a temperatura ambiente e incubar 90 minutos, posteriormente se desechó el contenido de la microplaca por decantación o aspiración. Luego, se agregó 350 µL de tampón de lavado, después se agregó 100 µL de solución de sustrato al pocillo (se tiene que añadir siempre los reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias de tiempo de reacción entre pocillos, incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se agregó 50 µL de solución preparada al pocillo y mezcló suavemente durante 15 a 20 segundos. Finalmente, se leyó la absorbancia a 450 nm (usando una longitud de onda de referencia de 620-630 nm). Los resultados se observaron en la pantalla del equipo y fueron expresados en nmol/L, ng/mL.<sup>57</sup>

### **3.8. Tipo y diseño de investigación**

#### **3.8.1. Tipo de investigación**

Esta investigación concierne a un estudio de tipo experimental, observacional y básico, con un nivel de investigación de enfoque cuantitativo. Está basado en acopiar información sobre la clasificación taxonómica de la planta, determinar sus particularidades, efectuar la caracterización de metabolitos secundarios presentes, calcular concentración cuantitativa de fenoles totales, flavonoides, evaluar la actividad antioxidante y el efecto sobre la fertilidad en ratas machos y hembras mediante el dosaje de hormonas sexuales. Dichos datos obtenidos serán de ayuda como conocimientos primordiales para posteriores trabajos de investigación.

#### **3.8.2. Tipo y diseño de investigación**

El diseño de investigación es con posprueba únicamente y grupo control este diseño se bosqueja de la siguiente manera:

$$\begin{array}{ccc} \mathbf{RG}_n & \mathbf{X}_n & \mathbf{O}_n \\ \mathbf{RG}_c & - & \mathbf{O}_c \end{array}$$

Donde:

**RG:** Representantes a los grupos experimentales organizados aleatoriamente.

**X<sub>n</sub>:** Es el tratamiento.

**O<sub>n</sub>:** Es la observación.



-: Es la ausencia del estímulo.

### **3.9. Análisis estadístico de datos**

Todos los ensayos de fenoles totales, flavonoides y antioxidantes fueron realizados por triplicado. Los resultados fueron indicados como la media  $\pm$  desviación estándar. Los datos del contenido de compuestos fenólicos, flavonoides, de la capacidad antioxidante mediante los tres métodos (DPPH, ABTS y FRAP) fueron sometidos al análisis de diferencias de medias utilizando el test de Student cuando siguen una distribución normal y de U – Mann Whitney cuando no siguen una distribución normal para muestras independientes, respectivamente. Se consideró las diferencias significativas cuando el valor de  $p < 0,05$ .

Para establecer las significancias estadísticas en los tratamientos sobre las hormonas, se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba Tukey para detectar posibles diferentes entre los tratamientos, considerando una significancia del 5% ( $\alpha = 0.05$ ).

#### **IV. RESULTADOS**

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.

Metabolito secundario	Ensayo	Observación	Resultado	
			Hojas	Tallos
Fenoles, taninos	FeCl <sub>3</sub>	Color azul negruzco intenso	+++	++++
Lactonas, cumarinas	Baljet	Coloración vino	++	+++
Flavonoides	Shinoda	Coloración naranja rojizo	++	++++
Triterpenos, esteroides	Lieberman B.	Coloración verde petróleo-negro	++++	++++
Aminoácidos	Ninhidrina	Coloración violeta intenso	++++	++++
Azúcares reductores	Benedict	Precipitado rojo	++	+++
Saponinas	Espuma	Presencia de espuma	+++	+++
Catequinas	catequinas	Fluorescencia verde carmelita	++++	+++
Glucósidos cardiotónicos	Kedde	Coloración violeta	+++	+++
Alcaloides	Wagner	Precipitado rojizo	++	+++
	Mayer	Precipitado blanquecino	++	++
	Dragendorff	Precipitado naranja intenso	++++	++++

Leyenda: escaso(+), moderado(++), intenso (+++), muy abundante (++++)

Tabla 3. Compuestos fenólicos presentes en el extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.

Compuestos fenólicos	Ensayo	Observaciones	Resultado	
			Hojas	Tallos
Fenoles, taninos	FeCl <sub>3</sub>	Coloración azul negro intenso	+++	++++
Flavonoides	Shinoda	Coloración naranja rojizo	++	++++

Leyenda: escaso(+), moderado(++), intenso (+++), muy abundante (++++)

Tabla 4. Contenido de fenoles totales y flavonoides en el extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.

<b>Extracto atomizado</b>	<b>Fenoles totales (mg GAE/g de extracto)</b>	<b>Flavonoides (mg QE/g de extracto)</b>	<b>Relación Flavonoides / fenoles</b>
<b>Hojas</b>	212.38 ± 3,19	121.49 ± 2,69	0,57
<b>Tallos</b>	464.38 ± 4,40	369,17 ± 3,16	0,79

\*p<0,05; t – Student para muestras apareadas

Los resultados son el promedio ± D.E. de nueve lecturas.

Tabla 5. Capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) de los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP del extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra". Ayacucho – 2022.

		<b>Extracto atomizado</b>	
		<b>Hojas</b>	<b>Tallos</b>
DPPH	<b>μmol ET/mg de extracto</b>	462,39 ± 2,0	597,20 ± 2,32
	<b>%</b>	53,20 ± 0,21	67,53 ± 0,25
	<b>IC<sub>50</sub> (μg /mL)</b>	922,04	841,95
ABTS	<b>μmol ET/mg de extracto</b>	202,32 ± 5,76	452,67 ± 5,20
	<b>%</b>	34,63 ± 0,81	69,83 ± 0,73
	<b>IC<sub>50</sub> (μg /mL)</b>	1396,09	678,70
FRAP	<b>μmol ET/mg de extracto</b>	198,13 ± 1,44	535,91 ± 1,56

\*p<0,05; t – Student para muestras apareadas

Los resultados son el promedio ± D.E. de nueve lecturas.

Figura 7. Efecto sobre el nivel de la hormona testosterona en ratas hembras *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

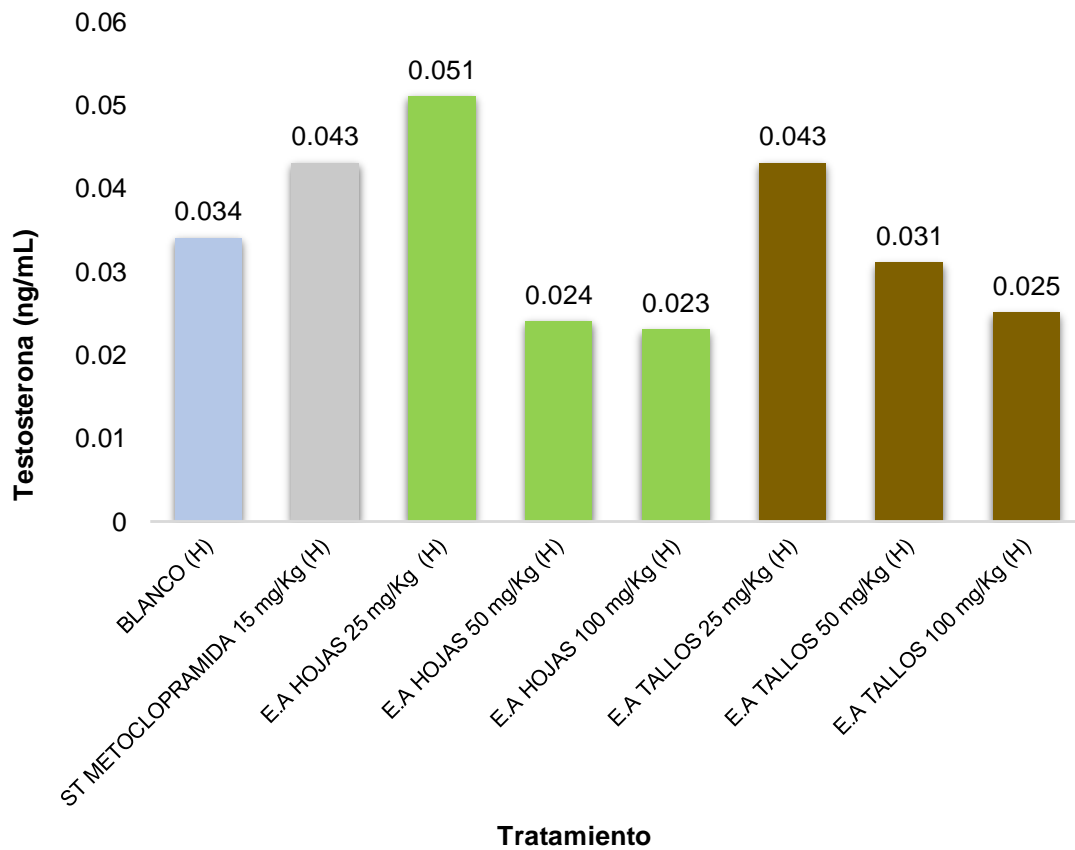


Figura 8. Efecto sobre el nivel de la hormona testosterona en ratas machos *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

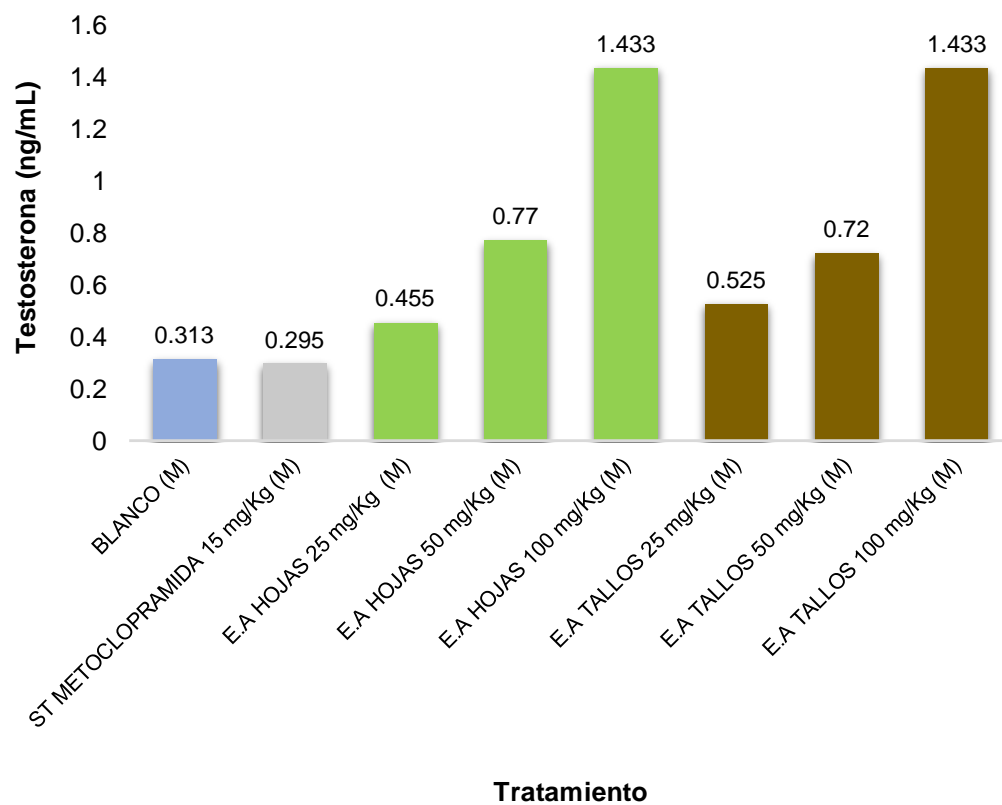




Figura 9. Efecto sobre el nivel de la hormona progesterona en ratas hembras *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

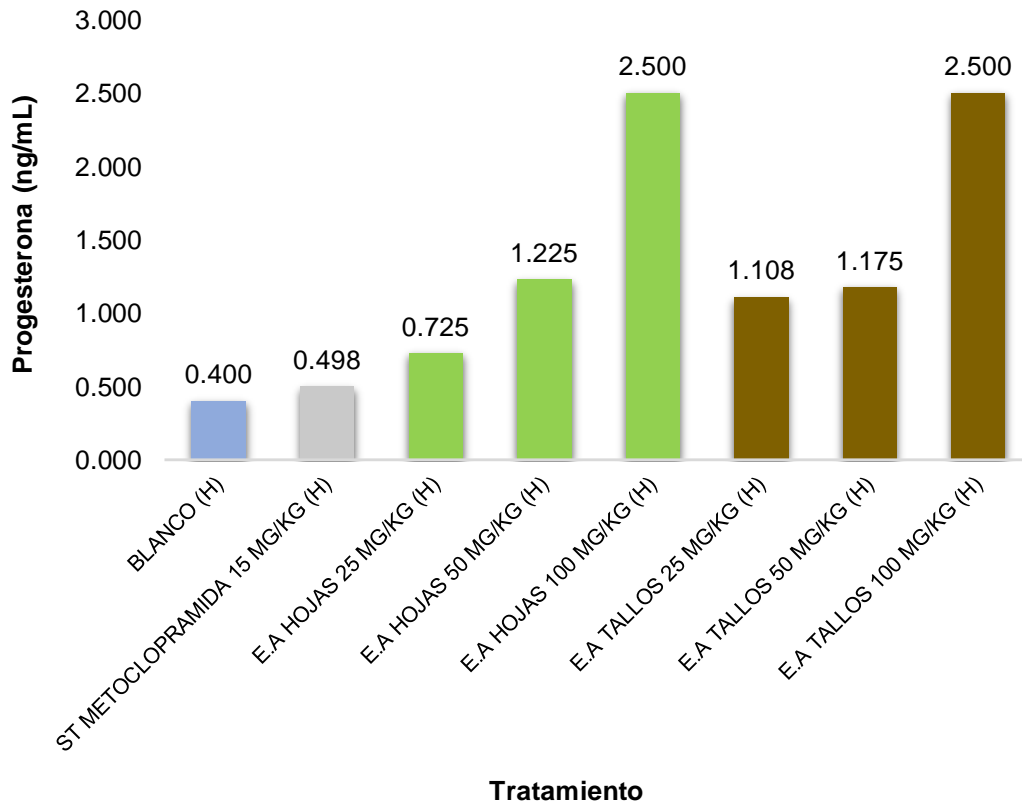


Figura 10. Efecto sobre el nivel de la hormona progesterona en ratas machos *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

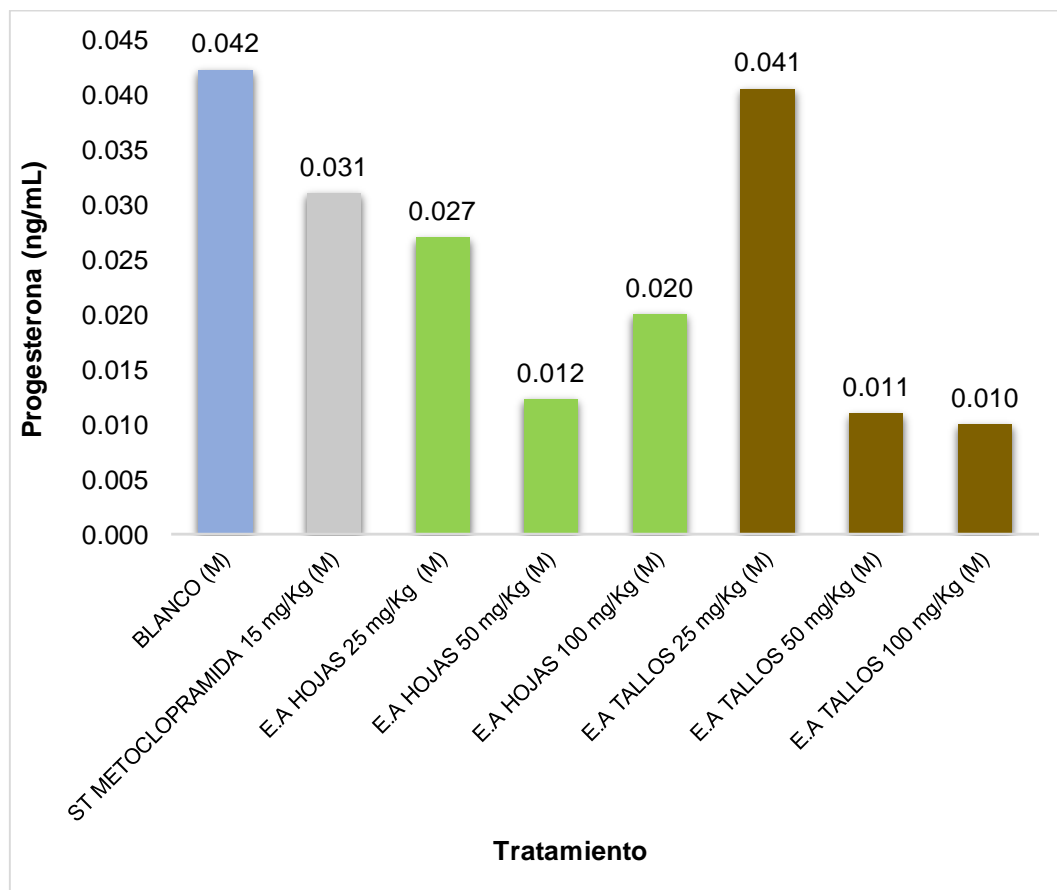


Figura 11. Efecto sobre el nivel de la hormona estradiol ( $E_2$ ) en ratas hembras *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

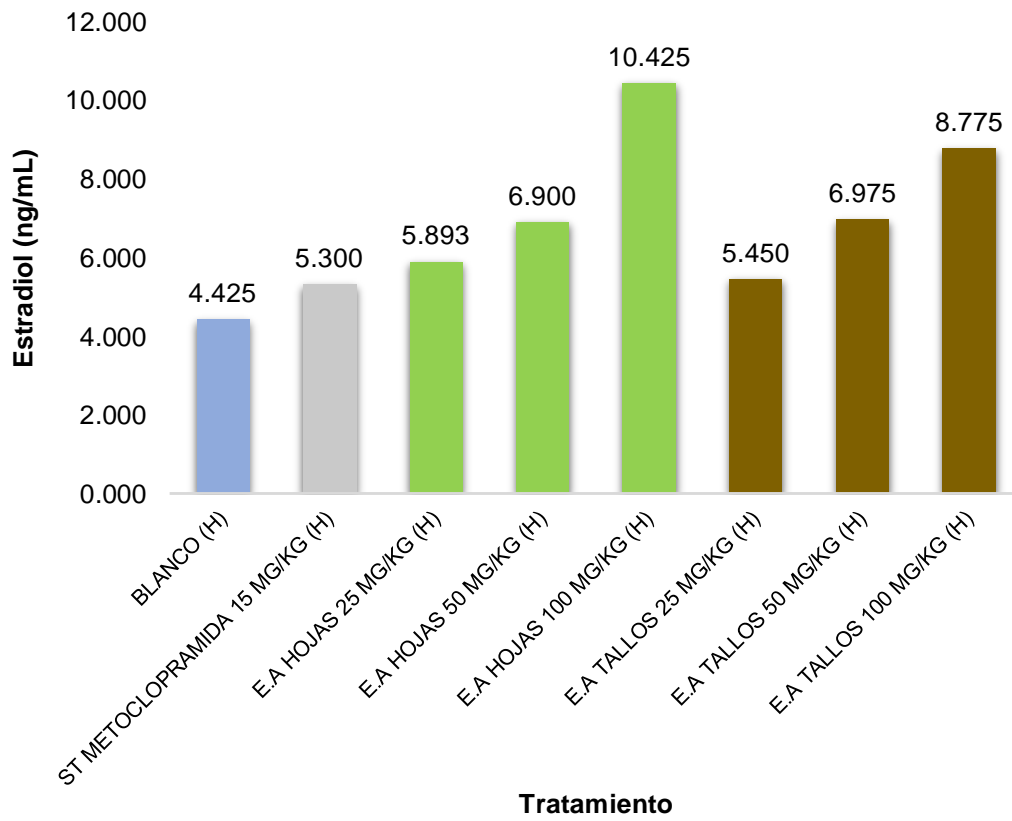


Figura 12. Efecto sobre el nivel de la hormona estradiol ( $E_2$ ) en ratas machos *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidioscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

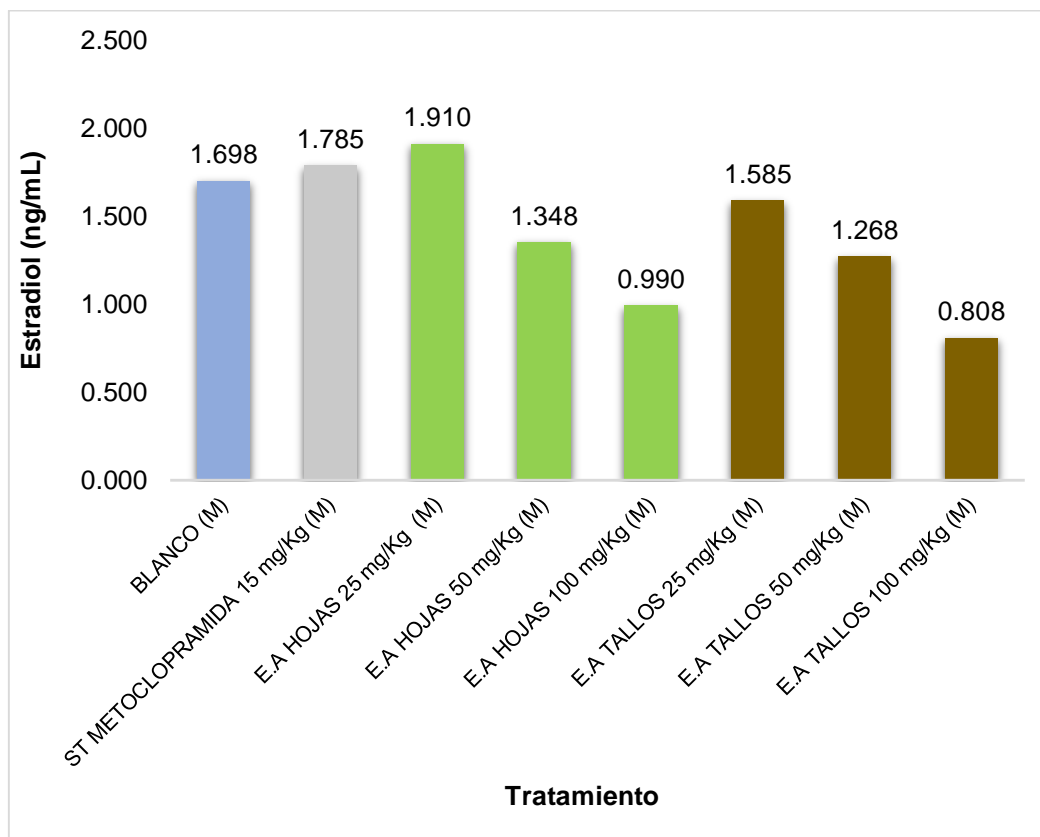


Figura 13. Efecto sobre el nivel de hormona luteinizante (LH) en ratas hembras *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidioscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

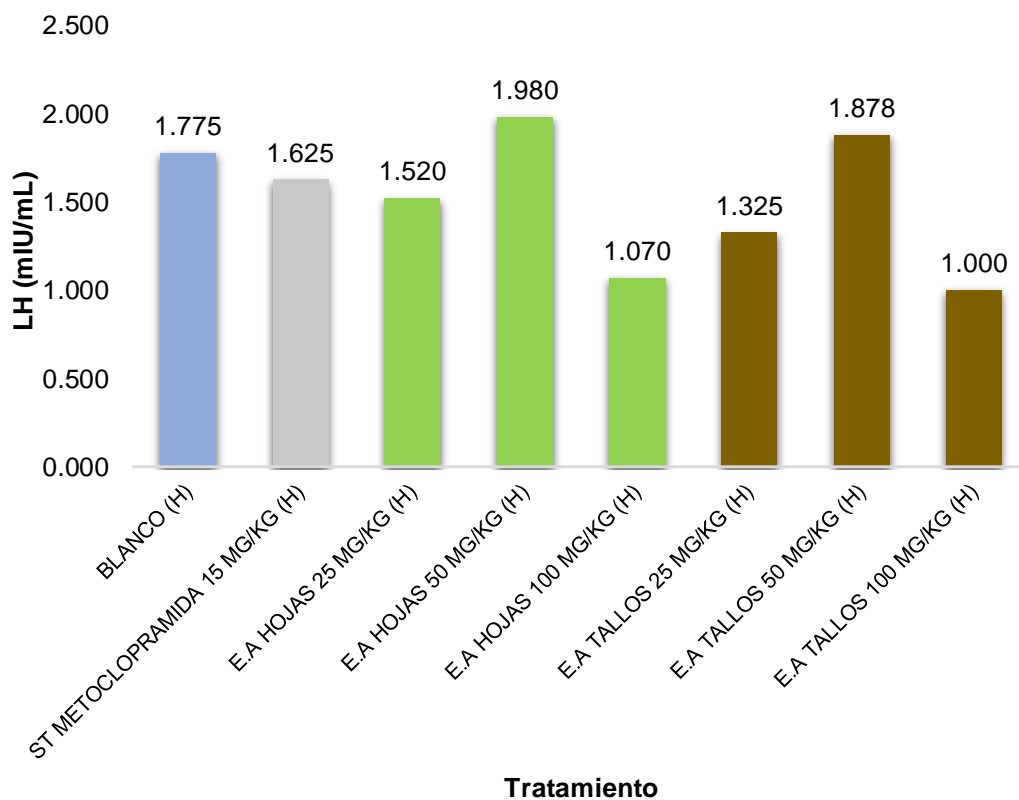


Figura 14. Efecto sobre el nivel de hormona luteinizante (LH) en ratas machos *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

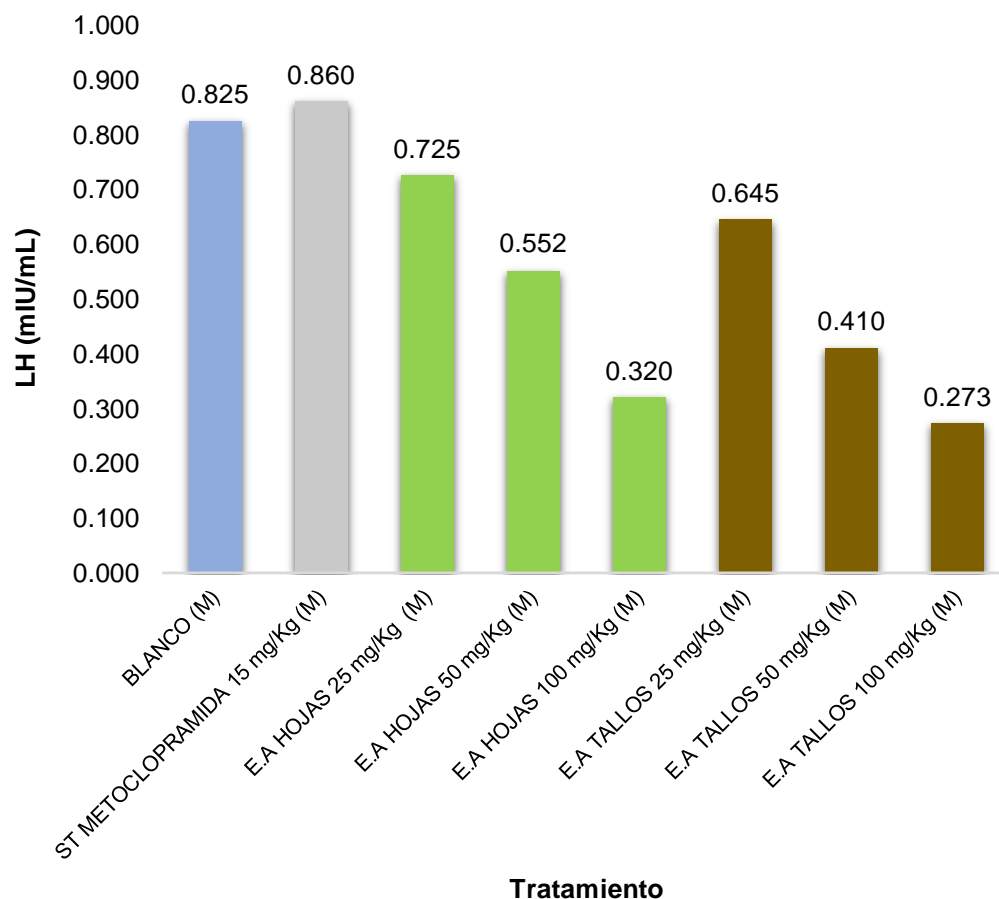


Figura 15. Efecto sobre el nivel de hormona folículo estimulante (FSH) en ratas hembras *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2023.

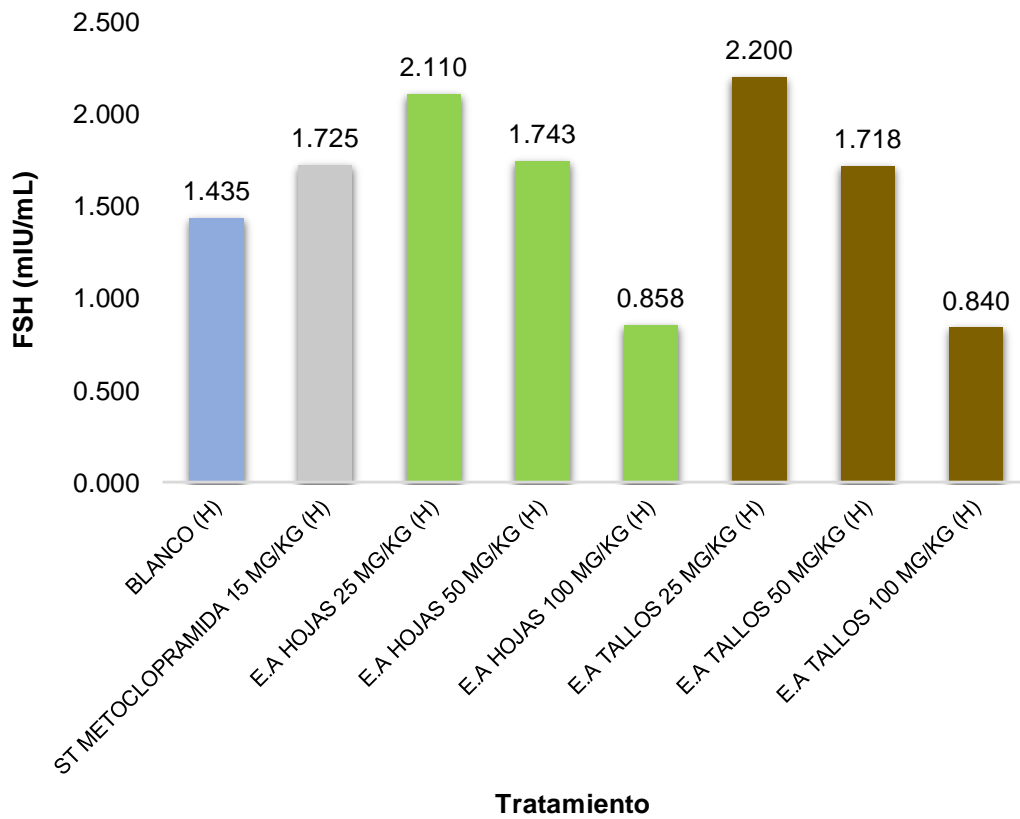
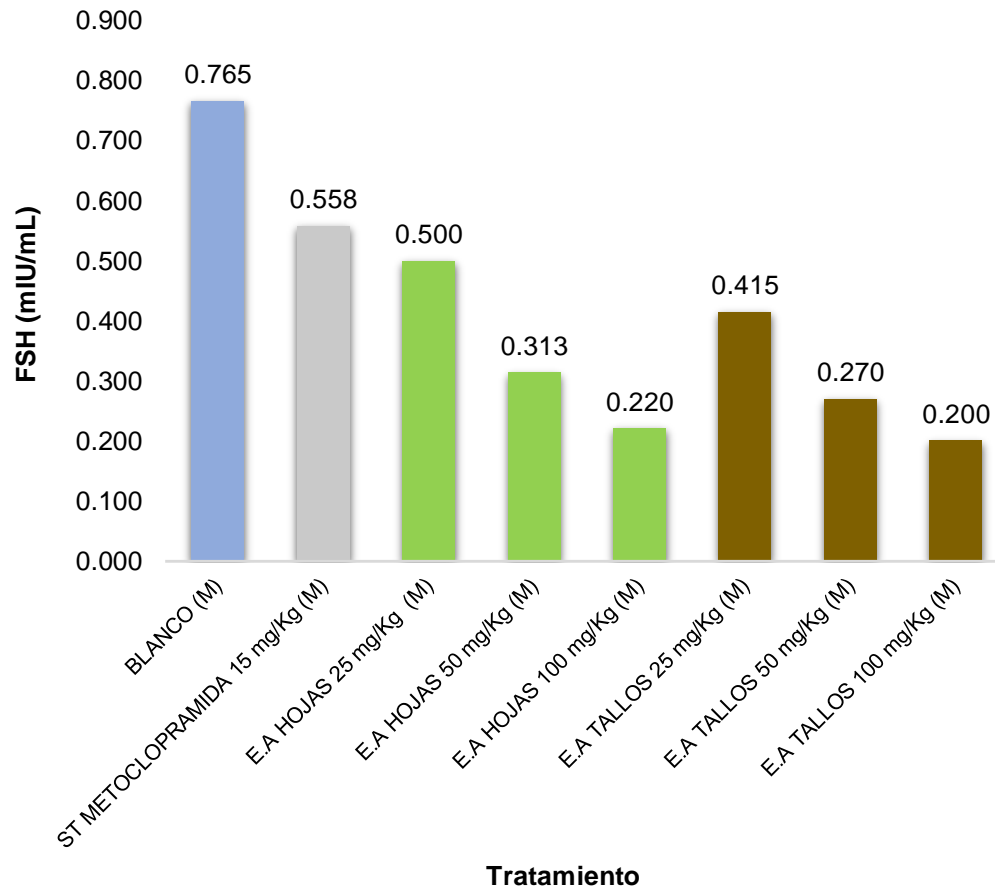


Figura 16. Efecto sobre el nivel de hormona folículo estimulante (FSH) en ratas machos *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.







## V. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de evaluar el efecto antioxidante y sobre la fertilidad del extracto atomizado de las hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”, donde se reportan las siguientes evaluaciones; tamizaje fitoquímico, caracterización y cuantificación del contenido de fenoles totales y flavonoides; determinación y evaluación del efecto antioxidante mediante los métodos de DPPH, ABTS y FRAP. Finalmente, el efecto sobre la fertilidad mediante la cuantificación de hormonas sexuales como progesterona, testosterona, estradiol, Hormona Folículo Estimulante (FSH) y Hormona Luteinizante (LH).

En la tabla 3, se muestran la presencia de distintos metabolitos secundarios presentes en las hojas y tallos del extracto atomizado, resaltando así fenoles, taninos, flavonoides, triterpenos, esteroides, lactonas y/o cumarinas, saponinas, catequinas, glucósidos cardiotónicos, aminoácidos libres, azúcares reductores, alcaloides y saponinas; obteniéndose así un mayor contenido de metabolitos secundarios en los tallos con respecto a las hojas. Además, resaltar en la tabla 4 los ensayos de cloruro férrico y Shinoda, mediante los cuales se puede determinar los compuestos fenólicos y/o taninos y flavonoides respectivamente, dando así una coloración naranja melón para flavonoides y una coloración azul intensa para compuestos fenólicos. Dichos hallazgos son determinantes de distintas actividades terapéuticas. (Anexo 3)

Investigaciones referidas a la especie *Cnidocolus* resaltan la presencia de triterpenos y/o esteroides, taninos, fenoles, saponinas, flavonoides y ácidos grasos. En hojas de *Cnidocolus chayamansa* Mc Vaugh (chaya) Mena *et al*<sup>7</sup> reporta en el extracto etéreo presencia de ácidos grasos, en el extracto etanólico triterpenos y/o esteroides, fenoles y/o taninos, flavonoides y aminoácidos, y finalmente, en el extracto acuoso, flavonoides y saponinas.

Por su lado, Luna M<sup>8</sup>, reporta en el extracto acuoso de las hojas de *Cnidoscolus aconitifolius* (chaya) presencia de glucósidos cianogénicos (en mayor proporción), fenoles, taninos, saponinas y azúcares reductores. Chavés<sup>58</sup>, determinó presencia de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las hojas y pelos urticantes (tricomas) de *Cnidoscolus urens* (L.) Arthur previamente liofilizados, menciona presencia de glucósidos cardiotónicos y cianogénicos en los pelos urticantes, en hojas mayor concentración de triterpenos y esteroides. La especie *Cnidoscolus* al contener tricomas en toda la planta, constituyen una fábrica de células metabólicas con la capacidad de originar grandes cantidades de metabolitos secundarios, las cuales son células especializadas secretoras, que cumplen funciones importantes de comunicación química, mecanismo de defensa.

En cuanto al contenido de fenoles totales y flavonoides del extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”, se realizó mediante el método espectrofotométrico de Folin Ciocalteu (anexo 4) y cloruro de aluminio (anexo 5). En la determinación de fenoles totales se realizó una curva de calibración con el estándar ácido gálico, donde muestra un coeficiente de correlación de  $R^2=0.9977$  (anexo 4). En la tabla 5, se observan los resultados del contenido de fenoles totales, en hojas  $212,38 \pm 3,19$  mg GAE/g y tallos  $464,38 \pm 4,40$  mg GAE/g de extracto, en la cuantificación de flavonoides se observa una cantidad en hojas de  $121,49 \pm 2,69$  mg QE/g y en tallos  $369,17 \pm 3,16$  mg QE/g, estándar quercetina con un  $R^2 = 0,9966$  (anexo 5), observando mayor contenido de compuestos fenólicos que flavonoides; se sustenta en que los compuestos fenólicos o polifenoles comprenden un amplio grupo de sustancias químicas, dentro de los cuales se encuentran los flavonoides. Se realizó la prueba de normalidad Shapiro – Wilk, prueba de T de student y prueba de homogeneidad de varianza para el contenido de fenoles totales y flavonoides de las hojas y tallos, obteniendo diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) (anexo 9).

Zambrano<sup>9</sup>, realizó cuantificación de fenoles totales y flavonoides de *Cnidoscolus tehuacanensis* Breckon, en extracto orgánico de frutos, hojas y tallos jóvenes de esta especie, los fenoles totales fueron cuantificados por el método colorimétrico de Folin Ciocalteu preparando un extracto a concentración de 600 a 2,500 mg/mL, reporta escaso contenido de ácido gálico (AG), donde a la máxima concentración (2,500 µg/mL) presentó  $3,023 \pm 0,06$  EqAG/g y a menor concentración (600 µg/mL)  $0,71 \pm 0,02$  EqAG/g de extracto. El contenido de flavonoides presentó la mayor

concentración (2,500 µg/mL)  $1.77 \pm 0.07$  EqQ/g extracto y menor (600 µg/ mL)  $0.406 \pm 0.03$  EqQ/g extracto, los compuestos fenólicos en comparación a nuestro trabajo de investigación fue escaso. Medina<sup>59</sup>, evaluó la actividad antioxidante y antiinflamatoria *in vitro* de los compuestos biológicamente activos de extractos liofilizados de las hojas de *Cnidoscopus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst, reportan que el extracto acuoso reconoció un mayor contenido de fenoles totales ( $70.61 \pm 0.07$  g/100 g de extracto), mientras que en el extracto etanólico obtuvo mayor contenido de flavonoides ( $47.76 \pm 4.84$  g/100 g de extracto), flavanonas y dihidroflavonoles ( $70.10 \pm 7.29$  g/100 g de extracto). Posada<sup>60</sup>, reporta los resultados de fenoles totales encontrados en el extracto etanólico al 50% de cinco muestras de las hojas y tallos de *Cnidoscopus Chayamansa*, donde las hojas de la muestra uno y cinco revelan un  $9.49 \pm 0.26$  y  $8.77 \pm 0.10$  mg EAG/g de hoja seca. Mientras, que las muestras uno y cinco de los tallos extraídos sin etanol muestran un  $14.83 \pm 0.42$  y  $13.10 \pm 0.32$  mg EAG/g de tallo seco. Por lo que se llega a la conclusión de que los tallos de esta especie *Cnidoscopus Chayamansa* presentan mayor contenido de fenoles totales del mismo modo que en nuestro trabajo de investigación.

En este trabajo de investigación también se determinó la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" a través de tres métodos de tipo colorimétricos *in vitro* con las especies radicalarias sintéticas DPPH, ABTS y FRAP, ya que estos son los más utilizados debido a que indican de manera general la capacidad antioxidante de las sustancias para donar hidrógenos o captar electrones. La determinación de la actividad antioxidante mediante los tres métodos se realizó de acuerdo a los esquemas descritos (anexo 6, 7 y 8). La curva de calibración se trabajó con el estándar trolox (anexo 6, 7 y 8).

En la tabla 6, se reporta la actividad antioxidante de las hojas y tallos del extracto atomizado de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" mediante los tres métodos mencionados, donde para el método DPPH se muestra que los tallos presentan mayor actividad antioxidante con un valor de  $597.20 \pm 2.32$  µmol ET/mg de extracto, mientras que de las hojas  $462.39 \pm 2.0$  µmol ET/mg de extracto. Donde el incremento de la capacidad antioxidante fue un  $67.53 \% \pm 0.25$  y  $53.20 \% \pm 0.21$  respectivamente. Por el método colorimétrico ABTS, los resultados fueron en tallos un  $452.67 \pm 5.20$  µmol ET/mg de extracto y en las hojas

un  $202,32 \pm 5,76$   $\mu\text{mol ET/mg}$  de extracto, en este caso el incremento de la capacidad antioxidante fue un  $69,83 \% \pm 0,73$  en tallos y  $34,63 \% \pm 0,81$  en hojas. Finalmente, tenemos la evaluación de la actividad antioxidante por el método FRAP, en el cual se obtuvieron los resultados de  $535,91 \pm 1,56$   $\mu\text{mol ET/mg}$  de extracto y  $198,13 \pm 1,44$   $\mu\text{mol ET/mg}$  de extracto de tallos y hojas, respectivamente. Además, se realizó la prueba de normalidad Shapiro – Wilk, prueba de T de student y prueba de homogeneidad de varianza hallándose diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) para los tres métodos (Anexo 10); observándose así que los tallos presentan mayor actividad antioxidante mediante el método DPPH con respecto a los demás.

Medina<sup>59</sup>, en extractos de las hojas de la especie *Cnidoscolus aconitifolius*, reporta la actividad antioxidante determinado por el ensayo DPPH a concentraciones de 150 a 900  $\mu\text{g/mL}$ , la máxima actividad antioxidante se obtuvieron con el extracto de acetona, con un  $49,85 \pm 5,3\%$  de inhibición; mientras con el método ABTS se obtuvieron una capacidad antioxidante máxima con el extracto etanólico con un  $41,02 \pm 3,18\%$  de inhibición. También, reporta el análisis de la varianza multifactorial se encontraron evidencias de una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) en la interacción de los extractos con las concentraciones evaluadas. Adeniran<sup>61</sup>, evalúa la actividad antioxidante del extracto de tallos de *Cnidoscolus aconitifolius* (Miller) MI Johnston, donde mediante la decoloración del radical 2, 2- difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) en metanol donde a una concentración de 5 mg/ml presenta un 57,13 % de inhibición, a 1 mg/ml presenta un 15,39 % de inhibición. De los resultados obtenidos en estas especies podemos afirmar que nuestros resultados de la actividad antioxidante tanto en hojas como tallos son superiores.

Zambrano<sup>9</sup> realizó la determinación de la actividad antioxidante mediante el ensayo colorimétrico con DPPH, donde observó que el extracto crudo de *Cnidoscolus tehuacanensis* Breckon a la máxima concentración (2 mg/mL) mostró un pobre porcentaje de inhibición de  $22,36 \pm 0,02 \%$ , y que a la mínima concentración (125  $\mu\text{g/mL}$ ) el porcentaje de inhibición fue 15,40 %, por lo cual estos resultados demuestran que la actividad antioxidante de esta especie fue escasa.

Se realizó la cuantificación de hormonas sexuales en muestras de suero recolectado de las ratas hembras y machos, como testosterona, progesterona,

estradiol, Hormona Folículo Estimulante (FSH) y Hormona Luteinizante (LH), los cuales se realizaron mediante el ensayo de inmunofluorescencia en seco, la cual está basada en un sistema de inmunodetección usando la interacción antígeno-anticuerpo y la tecnología de fluorescencia, para el cual se utilizó el equipo microprocesador integrado i-CHROMA III el cual calcula la concentración del analito en la muestra clínica basándose en una calibración preprogramada. Esta técnica es preciso, confiable y reproducible.

En la figura 7, el efecto del extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" sobre la hormona testosterona en ratas hembras *Holtzman*, donde a una dosis de 25 mg/Kg hay un pequeño incremento de los niveles de esta hormona a diferencia de otras dosis. Mientras que en la figura 8, se muestran que en las ratas machos a mayor concentración del extracto atomizado (100 mg/Kg) preparado tanto de tallos como en hojas se observa un incremento significativo del nivel de testosterona, a diferencia de las otras dosis administradas, a dosis de 100 mg/Kg se muestra un 1,433 ng/mL tanto para hojas y tallos del extracto con respecto al estándar (metoclopramida) 0,295 ng/mL y el blanco (agua destilada) 0,313 ng/mL, mientras que a la dosis de 50 mg/Kg un 0,77 ng/mL en hojas y un 0,72 en tallos y a la dosis de 25 mg/Kg un 0,455 ng/mL en hojas y 0,525 ng/mL en los tallos; se muestran resultados directamente proporcionales.

Rodríguez<sup>62</sup>, menciona que en la actualidad existen estudios que evidencian metabolitos secundarios como los flavonoides que participan en la inhibición de la aromatas (enzima que inhibe la conversión de testosterona en estradiol), dentro de ellas tenemos al flavonoide crisina que participa en la elevación de los niveles naturales de testosterona en ratas adultas, ya que presenta una estructura molecular estable y de bajo peso molecular para así poder pasar a través de las membranas celulares. Además, menciona la similitud de la estructura química entre las hormonas esteroideas (estradiol y testosterona) con flavonoides como la quercetina y genisteína. Zamudio *et al*<sup>63</sup>, muestra el efecto de un suplemento alimenticio a base de insumos naturales y componentes bioactivos de siete raíces sobre el comportamiento sexual en ratas, en este suplemento está constituido por plantas consideradas afrodisíacas dentro de los cuales muestra a dos familias Euphorbiaceas *Jatropha macrantha* Müll. Arg "huanarpo macho" y *Plukenetia volubilis* L. "sacha inchi". En el caso de *Jatropha macrantha* Müll. Arg muestra la

presencia de metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, taninos, compuestos antraquinónicos, alcaloides y saponinas. La *Plukenetia volubilis* L. presenta catequinas, triterpenoides, y en su mayoría alcaloides. En los resultados de este trabajo han mostraron el efecto de los productos probados sobre el aumento de la libido y actividad sexual en las ratas macho, sin obtener efectos secundarios sobre los parámetros hematológicos, bioquímicos, hormonales (testosterona y PSA).

En la figura 9, se muestra el efecto del extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” sobre la hormona progesterona en ratas hembras *Holtzman*, donde se observa que a una dosis de 100 mg/Kg hay incremento significativo de esta hormona con respecto al blanco, estándar y demás concentraciones del extracto que fue administrado, a una dosis de 100 mg/Kg se muestra un 2,500 ng/mL así como en hojas y tallos. A diferencia de la figura 10, que también se analiza los resultados sobre esta hormona, pero en ratas machos, se pueden observar que hay un descenso del nivel de esta hormona tanto en hojas como en tallos.

Castañeda<sup>64</sup>, menciona a los metabolitos secundarios como responsables de las funciones bioquímicas, el contenido de alcaloides, saponinas, taninos, glucosinolatos y esteroides en las plantas son considerado como el responsables del efecto sobre la fertilidad. Tenemos a las saponinas que se les atribuye un rol significativo sobre las hormonas sexuales, cumpliendo funciones de normalizar la secreción hormonal y son utilizadas en el tratamiento de la disfunción sexual; además, son conocidas como adaptógenos. Es posible que el contenido de flavonoides, triterpenos y/o esteroides, alcaloides, saponinas y aminoácidos libres contribuyan al incremento de las hormonas, por tanto, incremento de la fertilidad, ya que el sistema endocrino regula la producción de diversos tipos de hormonas, las cuales se encuentran conformadas básicamente por aminoácidos y esteroides. El organismo necesita aminoácidos para la fabricación de neurotransmisores (dopamina y norepinefrina), que transmiten señales en el sistema de excitación sexual y la actividad física durante la actividad sexual.

En la figura 11, se observa el efecto del extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” sobre la hormona estradiol ( $E_2$ ) en ratas hembras, el cual se observa que hay un incremento del valor de la hormona en función a la concentración de extracto

administrado, es directamente proporcional. En caso del extracto de hojas tenemos valores de 5.893 ng/mL (dosis 25 mg/Kg), 6,900 ng/mL (dosis 50 mg/Kg) y 10,425 ng/mL (dosis 100 mg/Kg), mientras en el extracto de tallos tenemos valores de 5,450 ng/mL (dosis 25 mg/Kg), 6,975 ng/mL (dosis 50 mg/Kg) y 8,775 ng/mL (dosis 100 mg/Kg), de niveles de esta hormona con respecto al blanco (4,425 ng/mL) y estándar de referencia (5,300 ng/mL). Mientras que en la figura 12, el análisis de esta hormona en el grupo de ratas machos no hay incremento; esto es debido a que esta hormona tiene una mayor concentración en las hembras.

De acuerdo a los resultados podemos decir que el extracto atomizado de hojas y tallos tiene cierta acción frente a esta hormona estradiol ( $E_2$ ), esto está relacionado con el contenido de ciertos metabolitos secundarios, principalmente los flavonoides, ya que presentan una estructura similar a los estrógenos. Según Marcos<sup>65</sup>, los estrógenos son exclusivamente producida por lo ovarios, encargada del desarrollo sexual femenino, interviene en la función normal de varios tejidos (útero, mama, esqueleto y el cerebro), donde el estradiol ( $E_2$ ) es el principal estrógeno secretado por los folículos en maduración en la fase ovulatoria. Medina<sup>66</sup>, menciona que los estrógenos que más abundan en el cuerpo son el estradiol, la estrona y estriol, las cuales tienen una estructura tipo esteroideal, dicha semejanza les da oportunidad de interactuar con receptores estrogénicos (RE). Cuando hay incremento en la sangre de 17- $\beta$  estradiol ( $E_2$ ) posibilita ciertas funciones de desarrollo y de los órganos (vagina, útero y las trompas de Falopio), además, el crecimiento de los conductos en la mama para la producción de leche. Dentro de este grupo involucrado tenemos a las isoflavonas, las cuales modulan la producción de globulina transportadora de hormonas sexuales (sex hormone binding globulin, SHBG) incrementando así los niveles citoplasmáticos.

Un estudio realizado por Oshima<sup>67</sup>, nos muestra el los efectos de polvos disueltos en 100 mL de agua de *Lepidium meyenii* Walp y *Jatropha macrantha* en los niveles sanguíneos de Estradiol-17, progesterona, testosterona y la tasa de implantación embrionaria en ratones, se realizaron en cuatro grupos (C: control, L: *Lepidium meyenii* Walp , J: *Jatropha macrantha* Y LJ: *Lepidium meyenii* Walp + *Jatropha macrantha*), donde los niveles de estradiol-17 y progesterona se midió en ratones hembras y la testosterona solo en machos, los resultados no mostraron diferencias significativas en los niveles sanguíneos de estradiol, pero, hubo una



diferencia significativa en los niveles de progesterona en sangre entre los grupos C y L ( $p < 0,05$ ), además, hubo una diferencia significativa en los niveles de testosterona entre el grupo C y los grupos L y LJ ( $p < 0,05$ ). Los resultados demuestran que, aunque aumentaron los niveles de progesterona en ratones hembra y los niveles de testosterona en ratones macho, no afectaron directamente los niveles de estradiol-17 o la tasa de embrionaria de ratones hembras. El incremento de testosterona y progesterona se debe al contenido de saponinas, ya que juegan un papel importante sobre las hormonas sexuales, además, está demostrado que las saponinas regularizan la secreción hormonal y por tanto se han usado para tratar la disfunción sexual. Estas saponinas son llamadas adaptógenos, las cuales mantienen las funciones fisiológicas del cuerpo.

En la figura 13, nos muestra el efecto del extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” sobre la hormona luteinizante (LH) en ratas hembras *Holtzman*, se observa un incremento de 1,980 mIU/mL en hojas y un 1,878 mIU/mL en tallos a dosis de 50 mg/Kg con respecto al blanco (agua destilada) 1,775 mIU/mL y al estándar (metoclopramida) 1,625 mIU/mL. Esta hormona es la encargada de la maduración de los folículos, la ovulación, secreción de progesterona y la iniciación del cuerpo lúteo. Con respecto del efecto sobre la LH del extracto atomizado sobre las ratas machos (figura 14), no se observa alguna variación significativa ( $p < 0,05$ ), los niveles hormonales se muestran más bajos que el estándar y el blanco.

En la figura 15, se observa el efecto sobre el nivel de hormona folículo estimulante (FSH) en ratas hembras *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”, se muestran resultados con disminución significativa ( $p < 0,05$ ) donde a dosis de 25 mg/Kg hay un incremento de los niveles de esta hormona 2,110 mIU/mL en hojas y 2,200 mIU/mL en tallos con respecto al blanco 1,435 mIU/mL y al estándar de referencia 1,725 mIU/mL; con las demás dosis administradas (50 mg/mL y 100 mg/mL) se observa la disminución de la concentración de dicha hormona, estos resultados son estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ). Mientras que en la figura 16 (que representan las ratas machos) se observa que no hay resultados significativos ( $p < 0,05$ ) de los niveles de LH.

Según los estudios realizados por Ayinde *et al*<sup>68</sup>, evaluaron los efectos del extracto de semillas de *Jatropha curcas* sobre las funciones reproductivas en hembras

ratas *Wistar*, en el cual utilizó 24 ratas, el trabajo se realizó en cuatro grupos: donde al grupo 1 se le administró solución salina (NaCl al 0,9%) como control, a los grupos 2, 3 y 4 se les administró el extracto de semilla a una dosis de 100, 200 y 400 mg/kg de peso, de manera respectiva, la administración fue durante catorce días por vía oral. Finalmente, las ratas fueron sacrificadas bajo anestesia (con ketamina) y se recolectaron muestras de sangre mediante punción cardíaca para luego cuantificar las hormonas progesterona, estrógeno, LH y FSH. Los resultados mostraron un incremento de estrógenos a dosis alta (400 mg/kg) y una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) a las demás dosis. En el dosaje de progesterona no hubo cambios significativos ( $p > 0,05$ ), los niveles de LH disminuyeron a dosis altas (200 y 400 mg/kg), mientras que la FSH tuvo una disminución global en todos los grupos en comparación al grupo control. Se llegó a la conclusión de que las semillas de *Jatropha curcas* perteneciente a la familia Euphorbiaceae es una planta con propiedades asociados a modificar las hormonas reproductivas femeninas, que conducen a la detención del crecimiento de los folículos ováricos debido a sus efectos sobre los ovarios, la glándula pituitaria y eventualmente el hipotálamo.

Musa *et al*<sup>14</sup> mencionan que las plantas con propiedad estrogénica pueden influir directamente en la acción pituitaria mediante la modulación periférica de LH y FSH, disminuyendo la secreción de estas hormonas y bloqueando la ovulación. Según el estudio realizado en el extracto de las hojas de *Cnidioscolous aconitifolius* en cuatro grupos con quince ratas en cada uno (I: control, II: 200 mg/Kg, III: 500 mg/Kg y IV: 1000 mg/Kg). Transcurrido los 7 días de administración los resultados mostraron que las concentraciones de FSH, LH, progesterona y estradiol en el suero fueron reducidas por el extracto a dosis altas, mientras que a dosis mínimas no produjo cambios significativos ( $p < 0,05$ ). Las alteraciones en las hormonas reproductivas en rata hembra por el extracto son indicios de efecto adverso sobre la maduración y ovulación de los folículos. En consecuencia, los cambios inducidos por el extracto en las hormonas reproductivas en ratas hembra sugieren efectos adversos sobre la maduración folicular y la ovulación. Por lo tanto, el extracto de hoja de *Cnidioscolous aconitifolius* puede afectar la fertilidad y la concepción en ratas hembra; por tanto, puede estudiarse como un anticonceptivo femenino.

Por lo tanto, según nuestros resultados del dosaje de LH en ratas hembras y machos, el extracto de las hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra", a dosis altas redujeron los niveles de esta hormona, del mismo modo ocurrió en el dosaje de FSH, se observaron cambios significativos ( $p < 0,05$ ) dependientes de las dosis donde el extracto disminuyó la hormona en comparación con el grupo control y estándar (figura 15 y 16). Los estudios observados de las alteraciones de estas hormonas reproductivas provocan irregularidades en las funciones ováricas y la duración del ciclo estral (conjunto de eventos fisiológicos que se llevan a cabo durante el celo) los cuales pueden ser causados por numerosos metabolitos contenidos en el extracto, se ha demostrado que los alcaloides y flavonoides son responsables de la reducción de la concentración plasmáticas de FSH, LH y estradiol.<sup>14</sup>

El screening fitoquímico realizado al extracto de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. revela el contenido fenoles, flavonoides, alcaloides, saponinas y entre otros, por el cual se podría afirmar que son responsables de alterar los niveles de las hormonas circulantes, llegando así a la conclusión de el extracto en estudio tiene propiedades sobre la fertilidad. Así mismo, se realizó la prueba de ANOVA y TUKEY obteniendo diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos ( $p < 0,05$ ) (anexo 12, 13, 14, 15, 16, 17 y 18)

## VI. CONCLUSIONES

1. El extracto atomizado de las hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra", tienen efecto antioxidante y sobre la fertilidad.
2. El contenido de compuestos fenólicos: fenoles totales en hojas fue:  $212,38 \pm 3,19$  mg GAE/g y en tallos  $464,38 \pm 4,40$  mg GAE/g de extracto; mientras el contenido de flavonoides en hojas fue:  $121,49 \pm 2,69$  mg QE/g y en tallos  $369,17 \pm 3,16$  mg QE/g de extracto, siendo mayor la cantidad de fenoles totales con respecto a los flavonoides.
3. El extracto atomizado presenta capacidad antioxidante, siendo mayor en los tallos con  $597,20 \pm 2,32$   $\mu$ mol ET/mg de extracto por el método DPPH; ABTS:  $452,67 \pm 5,20$   $\mu$ mol ET/mg y FRAP un  $535,91 \pm 1,56$   $\mu$ mol ET/mg.
4. El extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra", tienen efecto sobre la fertilidad a dosis de 100 mg/Kg en ratas hembras testosterona (hojas: 0,051 ng/mL, tallos: 0,025 ng/mL), progesterona (hojas y tallos: 2,500 ng/mL), estradiol (hojas: 10,425 ng/mL, tallos: 8,775 ng/mL), LH (hojas: 1,070 mIU/mL, tallos: 1,000 mIU/mL) y FSH (hojas: 0,858 mIU/mL, tallos: 0,840 mIU/mL). Mientras, en machos tenemos testosterona (hojas y tallos: 1,433 ng/mL), progesterona (hojas: 0,012 y tallos: 0,010 ng/mL), estradiol (hojas: 0,990 ng/mL, tallos: 0,808 ng/mL), LH (hojas: 0,320 mIU/mL, tallos: 0,273 mIU/mL) y FSH (hojas: 0,220 mIU/mL, tallos: 0,200 mIU/mL).
5. Las hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" con respecto al estándar metoclopramida presentan algunas variaciones, como en el caso de la hormona FSH, donde se observa que a medida que se administra las dosis de 25 mg/Kg, 50 mg/Kg

y 100 mg/Kg la concentración de la hormona disminuye tanto en ratas hembras como en machos.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar el aislamiento de los metabolitos secundarios presentes en *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”
2. Realizar la evaluación de la actividad antioxidante mediante métodos *in vivo* para confirmar su potencial antioxidante.
3. Realizar estudios de tipo farmacológico y toxicológico del extracto atomizado de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”, para evaluar su eficacia y seguridad toxicológica de una manera más selectiva.
4. Determinar el efecto sobre la fertilidad observando el número de fetos mediante evaluaciones histopatológicas en el útero.
5. Determinar el efecto antiimplantación en el útero de ratas hembras.
6. Motivar al cultivo de esta planta en estudio en distintas zonas del país, adecuando a su clima de desarrollo y adaptación para su uso medicinal y futuros estudios.
7. Fomentar la información acerca de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” a toda la comunidad científica, ya que esta planta presenta una importante actividad antioxidante, esto debido a su contenido de polifenoles, por lo cual ayudará revelar y estudiar nuevas estructuras moleculares y su posterior aislamiento para elaborar, transformar a futuros fármacos.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Lima-Perú; 2019 p. 13.
2. Peñarrieta J, Tejeda L, Mollinedo P, Vila J, Bravo J. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. Revista Boliviana de Química. 2014; 31(2):68-81.
3. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Nutrición Hospitalaria. febrero de 2012;27(1):76-89.
4. Pérez G. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. Rev Cubana Invest Bioméd. 2003;22.
5. Coronado M, Vega S, Gutiérrez R, Vázquez M. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Revista chilena de nutrición. junio de 2015;42(2):206-12.
6. Jiménez M, García I, Rojas S. Potencial biológico de especies medicinales del género *Cnidocolus* (Euphorbiaceae). Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. 2014;45(4).
7. Mena Y, González D, Valido A, Pizarro A, Castillo O, Escobar R. Estudio fitoquímico de extractos de hojas de *Cnidocolus chayamansa* Mc Vaugh (Chaya). Revista Cubana de Plantas Medicinales. diciembre de 2016;21(4):1-13.
8. Luna V. Evaluación de la actividad antioxidante e hipoglucemiante de un jarabe de extracto acuoso de hojas de chaya (*cnidoscolus aconitifolius*) libre de glucósidos cianogénicos. [Tesis]. [Machala-Ecuador]: Universidad Técnica de Machala; 2014.
9. Zambrano O, Carrasco A, Aguilar A, Hernández L. Actividad antiinflamatoria, antioxidante y antimicrobiana del extracto orgánico de *Cnidocolus tehuacanensis* Breckon y su fraccionamiento químico. Rev Mex Cienc Farm. 2017;48:12.
10. Sánchez O. Evaluación del efecto antiproliferativo sobre la línea celular DU-145 y estudio fitoquímico de *Cnidocolus multilobus* (PAX) I.M. Johnston [Tesis]. [Xalapa-Mexico]: Universidad Veracruzana; 2018.
11. Zapata H. Actividad antioxidante, analgésica y antiinflamatoria de metabolitos de la flora nativa de la península de Yucatán. [Merida-Yucatan-Mexico]: Centro de Investigación Científica de Yucatán; 2014.
12. Bautista W. Determinación de los metabolitos secundarios de *Cnidocolus basiacanthus* y *Jatropha macrantha* para su validación y uso en el Perú. [Tesis]. [Trujillo-Perú]: Universidad Nacional de Trujillo; 2010.
13. Tinco A. Efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll. Arg." huanarpo macho" en ratas con inducción de

- disfunción eréctil [Tesis]. [Lima-Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010.
14. Musa Y, Musbau A, Adenike O, AbdulWaheed O, Ayoade A. Effect of *Cnidoscoulous aconitifolius* (Miller) I.M. Johnston leaf extract on reproductive hormones of female rats. 2008;6(3):8.
  15. Escobar K. Anatomía foliar y del pecíolo de especies del género *Cnidoscoulus* Pohl. (Euphorbiaceae) en el estado de Puebla [Tesis]. [Puebla-Mexico]: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; 2021.
  16. Brush C. Estudio del procesamiento tecnológico para la elaboración de un té a partir de la *cnidoscolus aconitifolius* (chaya). [Tesis]. [Guayaquil-Ecuador]: Universidad de Guayaquil; 2006.
  17. Paredes F, Roca J. Influencia de los radicales libres en el envejecimiento celular. *Offarm*. 2002;21(7):96-100.
  18. Maldonado O, Jiménez E, Guapillo M, Ceballos G, Méndez E. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. *Mexico*. 2010;33-9.
  19. Soca L. Contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora trifoliata* Cav. "puru puru" [Tesis]. [Ayacucho-Perú]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2018.
  20. Delgado L, Betanzos G, Sumaya T. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia Aguascalientes-Mexico*. 2010;(50):10-5.
  21. Hernández D, McCord J. Evolución y radicales libres. Importancia del estrés oxidativo en la patología humana. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2007;45(5):477-84.
  22. Benitez D. Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: *Rev Cubana Invest Biomed*. 2006;25(2).
  23. Mariaca C, Zapata M, Uribe P. Oxidación y antioxidantes: hechos y controversias. *rev asoc colomb dermatol cir dematol*. 1 de julio de 2016;24(3):162-73.
  24. Contreras D. Determinación de Capacidad Antioxidante y Fenoles Totales en Semillas de *Vitis vinifera* L. "Vid", del Valle de Cañete [Tesis]. [Huacho-Perú]: Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión; 2019.
  25. Martín G. The phenolic compounds: an approach to their biosynthesis, synthesis and biological activity. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. 2018;9(1):81-104.
  26. Bass L. Obtención de extractos polifenólicos con actividad biológica a partir de harinas elaboradas con subproductos de limón italiano. [Tesis]. [Merida-Mexico]: Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco; 2014.



27. Amaya L, Portillo C. Determinación de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el ingenio chaparrastique por el método de espectrofotometría ultravioleta-visible. [Tesis]. [San Salvador-El Salvador]: Universidad de El Salvador; 2013.
28. Vásquez G. Cuantificación y caracterización de compuestos fenólicos en la planta de maíz (*Zea mays L.*). [Tesis]. [Sinaloa-México]: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo; 2016.
29. Chong R. Alimentos ricos en flavonoides y sus beneficios a la salud. [Tesis]. [Tarapoto-Perú]: Universidad Nacional de San Martín Tarapoto; 2011.
30. Martínez C. Identificación de flavonoides con actividad antioxidante presentes en *Alchornea coelophylla* (Euphorbiaceae). [Tesis]. [Pereira - Colombia]: Universidad Tecnológica de Pereira; 2014.
31. Quintanar M, Calderón J. La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de Educación Bioquímica*. 2009;28(3):89-101.
32. García E, Fernández I, Fuentes A. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin Ciocalteu. *ETSIAMN*; 2017.
33. Roa B, Bolívar M. Evaluación de la variabilidad de la capacidad antioxidante y contenido fenólico de fruto maduro de *prunus serotina* (cerezo), fruto liofilizado y mermelada. [Tesis]. [Arequipa-Perú]: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2010.
34. Cruz J. Determinación de fenoles y flavonoides en extractos de hojas de plantas con actividad antioxidante empleando espectroscopia FTIR y análisis multivariado. [Tesis]. [Lima-Perú]: Universidad Privada Norbert Wiener; 2014.
35. Figueroa S, Mollinedo O. Actividad antioxidante del extracto etanólico del mesocarpio del fruto de *Hylocereus undatus* "pitahaya" e identificación de los fitoconstituyentes. [Tesis]. [Lima-Perú]: Universidad Privada Norbert Wiener; 2017.
36. Bohórquez R. Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas de *Diplostegium phylloides* (Kunth) Wedd. [Tesis]. [Bogotá-Colombia]: Universidad El Bosque; 2016.
37. Grados E. Papel de las hormonas esteroideas sexuales en las crisis de ausencia en ratas mutantes de Mielina Taiep [Tesis]. [Puebla-México]: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; 2019.
38. Narváez P, Tamay M. Cuantificación de hormona folículo estimulante, hormona luteinizante y estradiol en mujeres de 45 - 55 años en etapa de climaterio. [Tesis]. [Cuenca-Ecuador]: Universidad de Cuenca; 2013.
39. Cerda S. Intervalos de referencia del perfil hormonal femenino con metodología de electroquimioluminiscencia en población de edad fértil en el laboratorio SUIZA LAB, sede Miraflores, 2020. [Tesis]. [Lima-Perú]: Universidad Norbert Wiener; 2020.

40. Aristil P. Manual de farmacología básica y clínica. McGraw-Hill Interamericana; 2013. 319 p.
41. Herreño J. Caracterización de eventos adversos y problemas relacionados con metoclopramida reportados al programa distrital de farmacovigilancia en Bogotá D.C. 2008 – al 2017. [Tesis]. [Bogotá-Colombia]: Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales; 2018.
42. Alfonso I, Jiménez G, Chao A, Ávila J. La metoclopramida y sus reacciones adversas sobre el sistema nervioso central. Revista Cubana de Medicina General Integral. junio de 2011;27(2):197-206.
43. Cronquist A. An integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia University Press; 1981. 1262 p.
44. Miranda M, Cuéllar A. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. 1.<sup>a</sup> ed. La Habana-Cuba: Empresa Editorial Poligráfica Félix Varela; 2014.
45. Swain T, Hillis W. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. J Sci Food Agric. enero de 1959; 10(1):63-8.
46. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Hawkins Byrne D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis. 1 de septiembre de 2006; 19(6):669-75.
47. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry. 1 de marzo de 1999; 64 (4):555-9.
48. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology. 1 de enero de 1995; 28 (1):25-30.
49. Enciso E, Aguilar E, Tinco J, Arroyo J, Herrera O. Biomolecules with Antioxidant Capacity from the Seeds and Sprouts of 20 Varieties of *Chenopodium quinoa* Willd. (Quinoa). Plants (Basel). 9 de noviembre de 2021;10(11):2417.
50. Aguilar E, Bonilla P, Enciso E. Capacidad antioxidante de extractos obtenidos de las hojas de *Senecio rufescens* DC. rsqp. 30 de marzo de 2021; 86(4):374-85.
51. Arnao M, Cano A, Acosta M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chemistry. 1 de mayo de 2001; 73(2):239-44.
52. Benzie I, Strain J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. Analytical Biochemistry. 15 de julio de 1996; 239(1):70-6.
53. Boditech Med Incorporated. i-CHROMATM FSH. 2019.

54. Inserto-LH.pdf [Internet]. [citado 3 de junio de 2023]. Disponible en: <https://desego.com/wp-content/uploads/2016/02/Inserto-LH.pdf>
55. Inserto-Testosterona.pdf [Internet]. [citado 3 de junio de 2023]. Disponible en: <https://desego.com/wp-content/uploads/2016/02/Inserto-Testosterona.pdf>
56. Progesterona-2020.pdf [Internet]. [citado 3 de junio de 2023]. Disponible en: <https://desego.com/wp-content/uploads/2019/05/Progesterona-2020.pdf>
57. Monobind Inc. 3. Estradiol (E2) Test System. Monobind Inc.; 2019.
58. Cháves G, Ortíz L. Phytochemical study of *Cnidoscolus urens* (L.) Arthur from Cucuta's region (Colombia). *Información Tecnológica*. 2022; 33(6):21-30.
59. Medina U, Millán M, Arana V, Segura M. In vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of chaya extracts (*Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst). *Nutr Hosp*. 2019;
60. Posada K. Actividad antioxidante in vitro de extractos etanólicos de *Cnidoscolus Chayamansa*. [Tesis]. [Teapa Tabasco- México]: Instituto Tecnológico Superior De la Región Sierra; 2020.
61. Adeniran O, Olajide O, Igwemmar N, Orishadipe A. Phytochemical constituents, antimicrobial and antioxidant potentials of tree spinach [*Cnidoscolus aconitifolius* (Miller) I. M. Johnston]. *JMPR*. 2013;7(19):1310-6.
62. Rodríguez G. Uso potencial de flavonoides y antocianinas en el cultivo de peces: producción de organismos monosexados y nutraceuticos. *Avances en Nutrición Acuicola*. 2011; 301-14.
63. Zamudio K, Romero E, Brizuela G, Acevedo J, Figueroa M. Effect of a food supplement based on natural supplies and bioactive components of seven roots on sexual behavior in rats. *Ciencia e Investigación*. 2020;23(2):41-9.
64. Castañeda B, Castro R, Manrique R, Ibañez L. Efectos metabólicos de *Lepidium meyenii* Walpers, "maca" y *Lupinus mutabilis* Sweet, "chocho" en ratas. *Horizonte Médico (Lima)*. 2007;7(1):32-8.
65. Marcos J. Las hormonas esteroideas sexuales, el envejecimiento y el ejercicio. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte*. 2008;1(1):22-36.
66. Medina V. Evaluación de la actividad estrogénica de un extracto de planta medicinal endémica en útero de rata prepúber y de su toxicidad oral aguda en ratas adultas. [Tesis]. [Santiago de Chile-Chile]: Instituto Tecnológico Superior de la Región Sierra; 2010.
67. Oshima M, Gu Y, Tsukada S. Effects of *Lepidium meyenii* Walp and *Jatropha macrantha* on Blood Levels of Estradiol-17 $\beta$ , Progesterone, Testosterone and the Rate of Embryo Implantation in Mice. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2003; 65(10):1145-6.

68. Ayinde T, Abubakar H, Ojulari L, Balogun M, Liadi M, Olayaki L, et al. Effect of *Jatropha curcas* seed aqueous extract on quality of semen and reproductive hormones in male wistar rats. Int J Basic Appl Physiol. 2022;11(1):83-8.

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Constancia de identificación de la especie *Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.



**CONSTANCIA N°021-USM-MHN-2022**

EL JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USHM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (ramas floridas) recibida del QF. **Johnny Aldo TINCO JAYO**, Docente principal de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huancayo-Ayacucho, ha sido estudiada y clasificado como: ***Cnidoscolus diacanthus*** (Pax. & Hoffm.) Macbr., y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Clasificación de APG IV (2016):

**ORDEN: EUPHORBIALES**

**FAMILIA: EUPHORBIACEAE**

**GENERO: Cnidoscolus**

**ESPECIE: Cnidoscolus diacanthus** (Pax. & Hoffm.) Macbr.

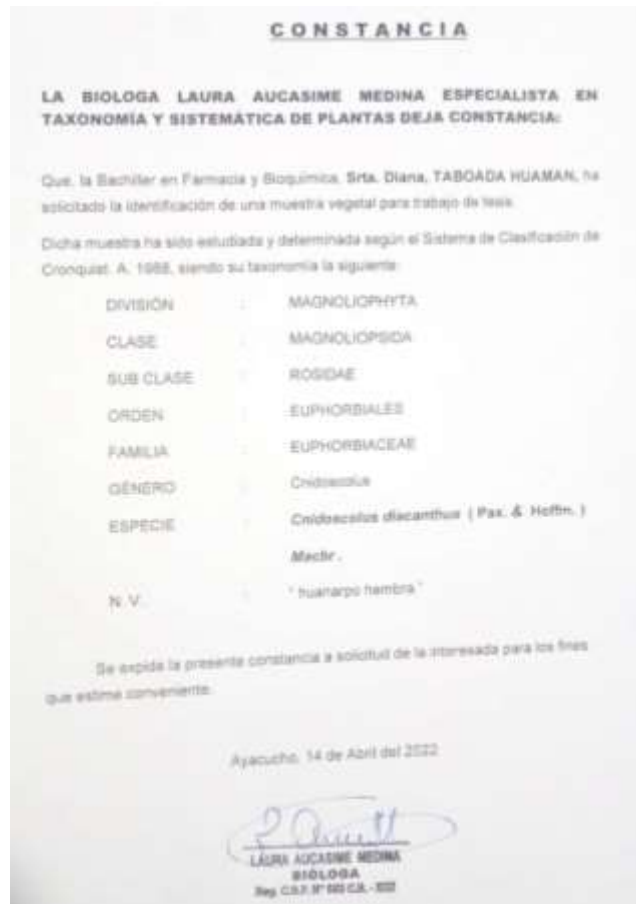
Nombre vulgar: huanarpo hembra  
Determinado por: Mag. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime convenientes.

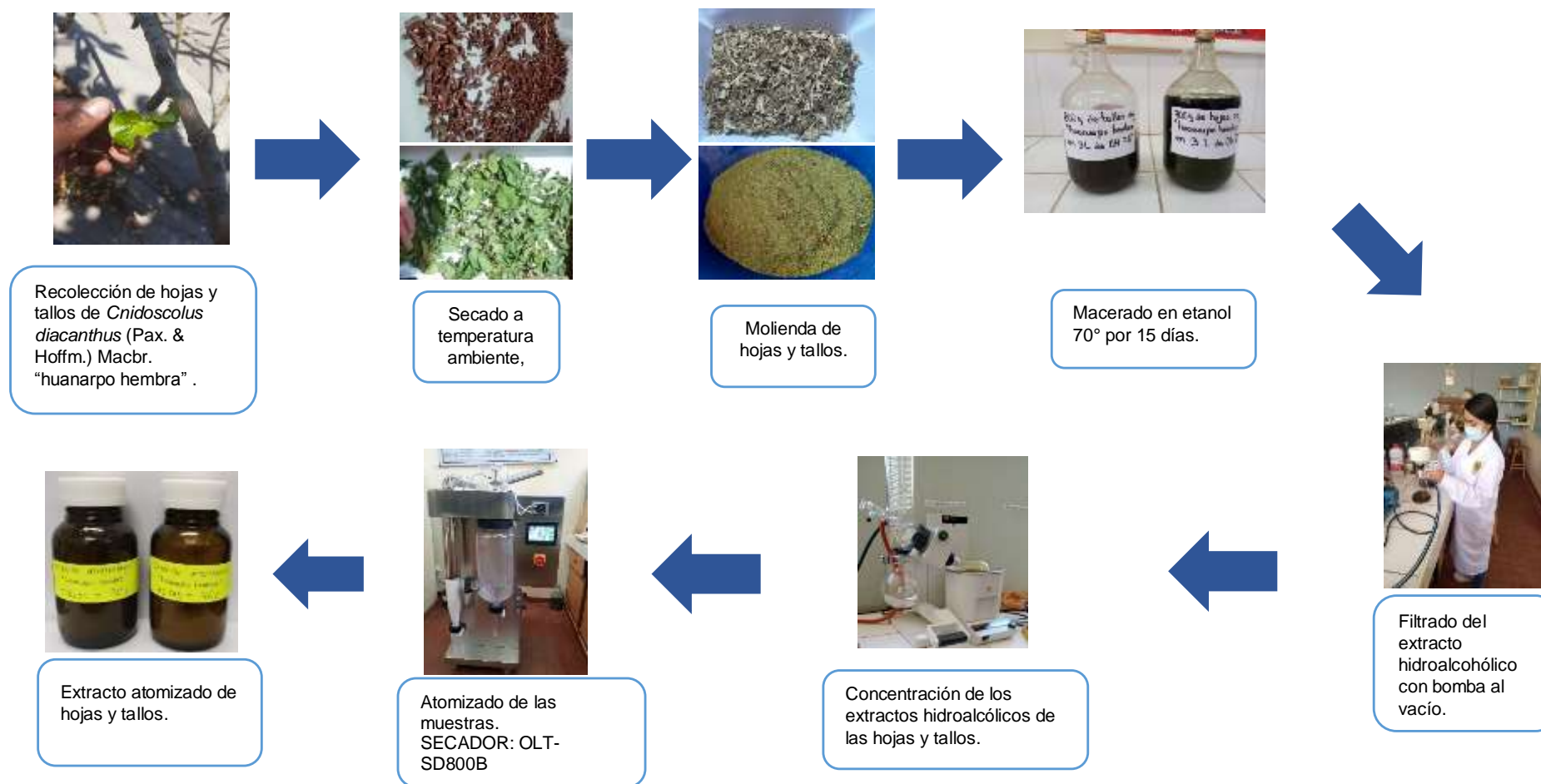
Lima, 07 de abril de 2022

  
Dr. **Aurición Cano Echevarría**  
JEFE(e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USHM)

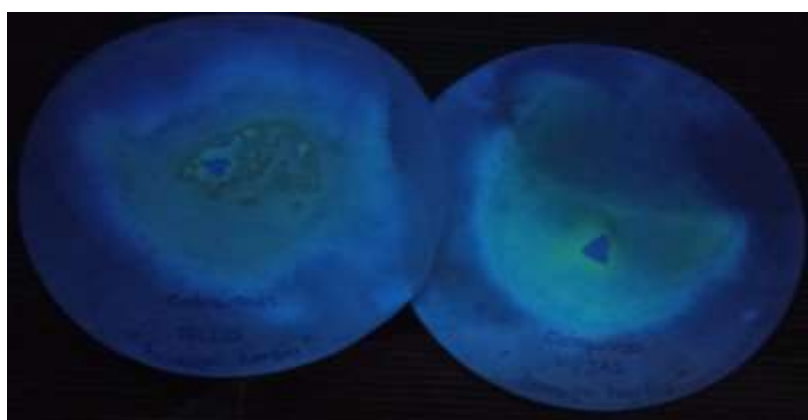
ACUAR



**Anexo 2.** Procedimientos de obtención de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”, Ayacucho – 2022.



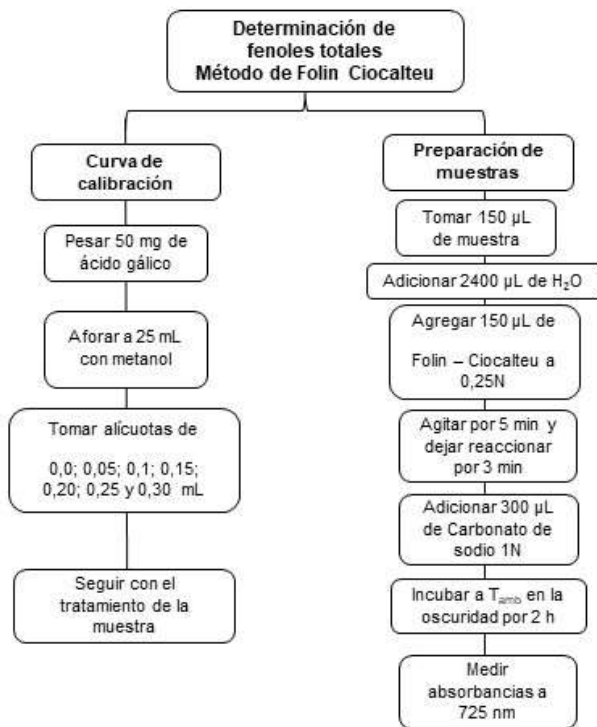
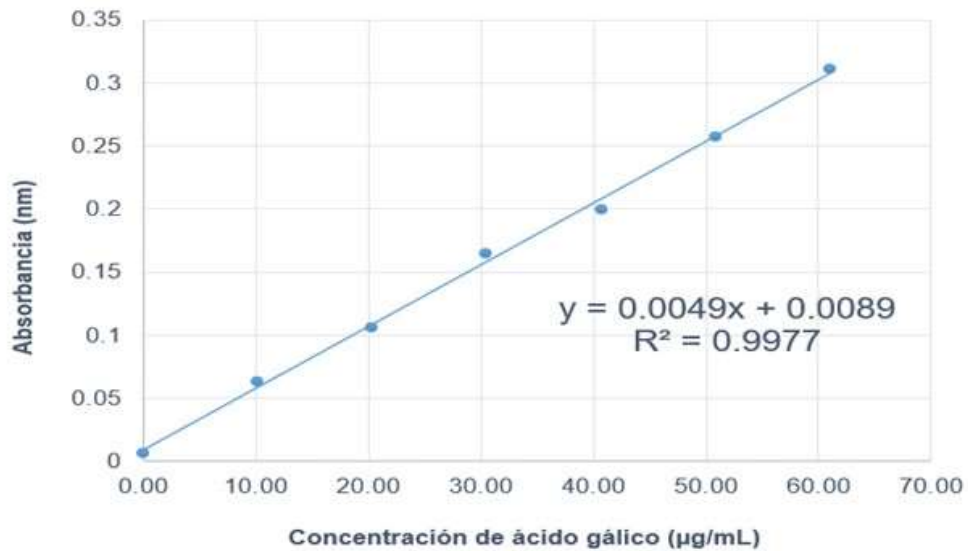
**Anexo 3.** Identificación de los metabolitos secundarios contenidos en el extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra", según Miranda y Cuellar (2000). Ayacucho – 2022.





**Anexo 4.** Ilustración de la determinación del contenido de fenoles totales de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra". Ayacucho – 2022.

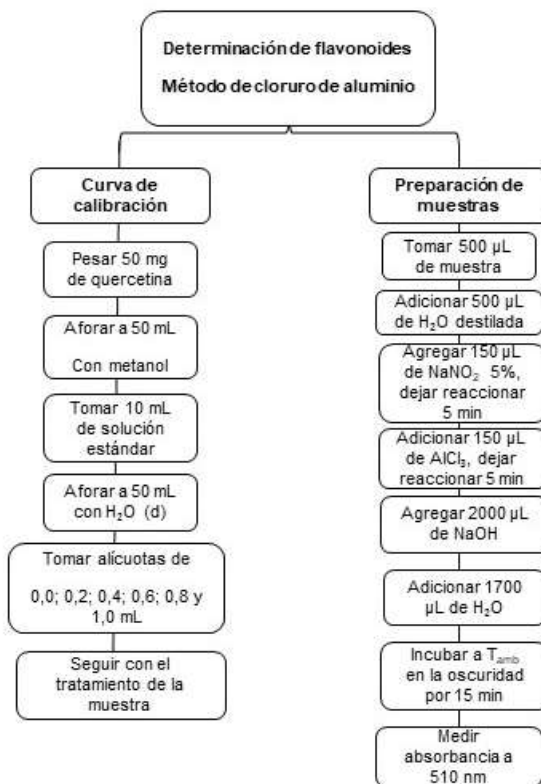
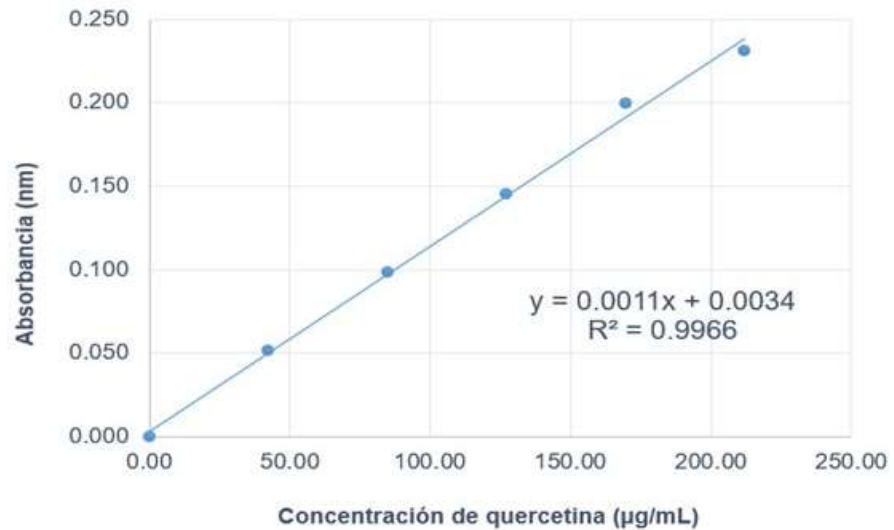
Curva de calibración del ácido gálico.



Fenoles totales en tallos y hojas de *Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra"

**Anexo 5.** Ilustración de la evaluación del contenido de flavonoides del extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra". Ayacucho – 2022.

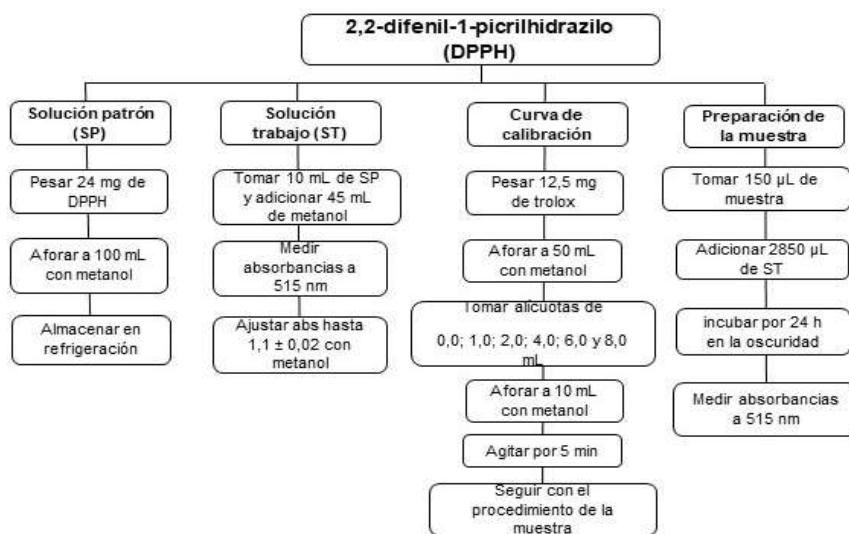
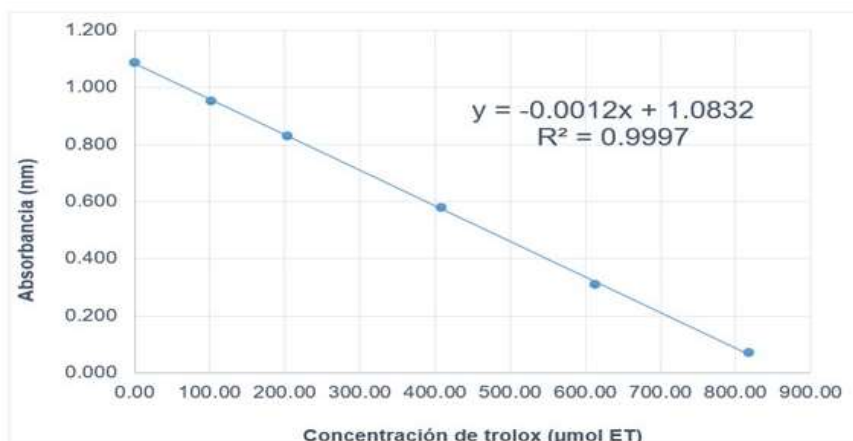
Curva de calibración de la quercetina.



Flavonoides en tallos y hojas de *Cnidoscolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra".

**Anexo 6.** Flujoograma para evaluar la actividad antioxidante por el método DPPH de hojas y tallos del extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra". Ayacucho – 2022.

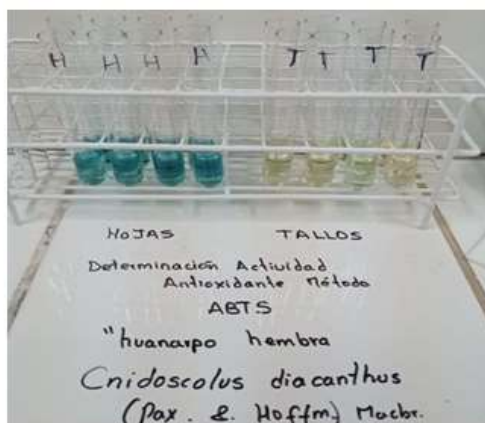
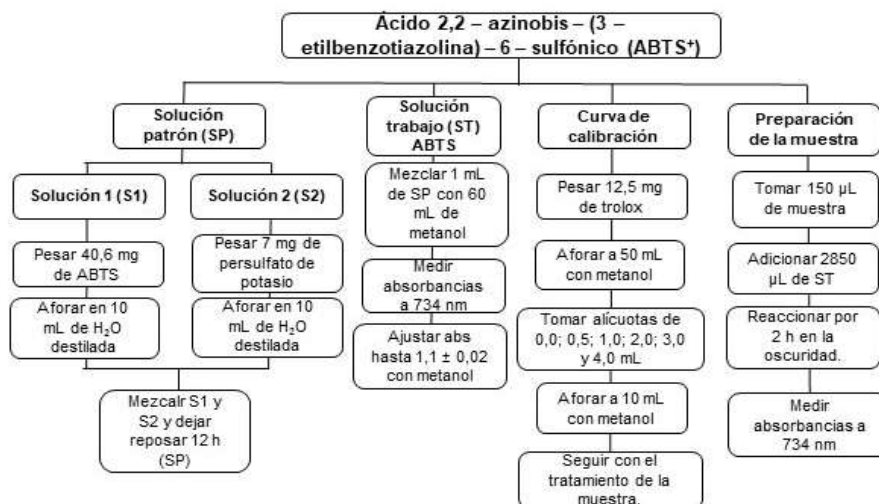
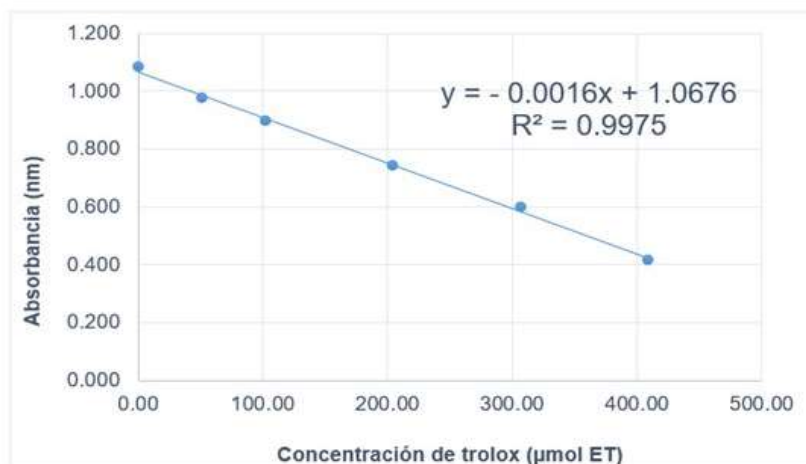
Curva de calibración para determinar la actividad secuestradora del radical libre DPPH.



Secuestro del DPPH de los compuestos fenólicos de tallos y hojas de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra"

**Anexo 7.** Diagrama para determinar la actividad antioxidante por el método ABTS de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra". Ayacucho – 2022.

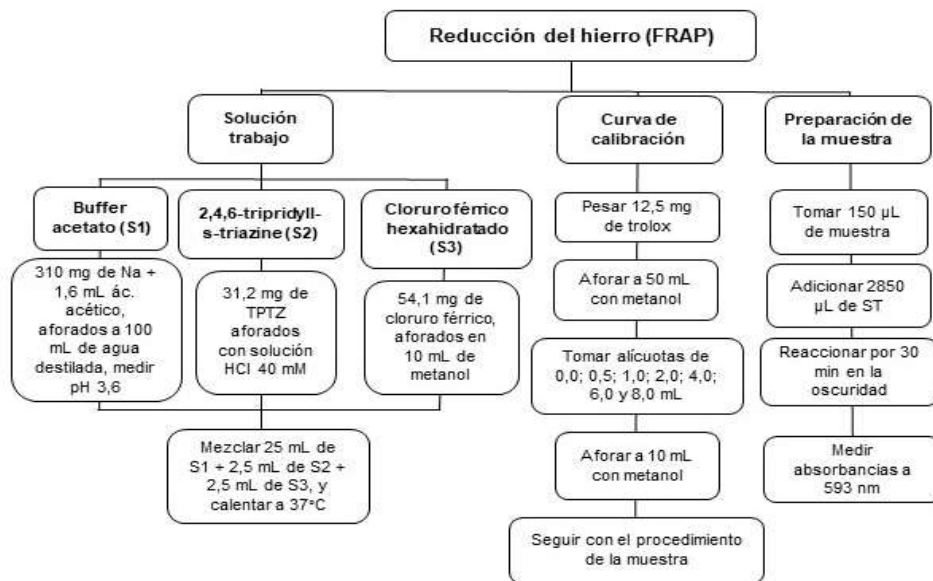
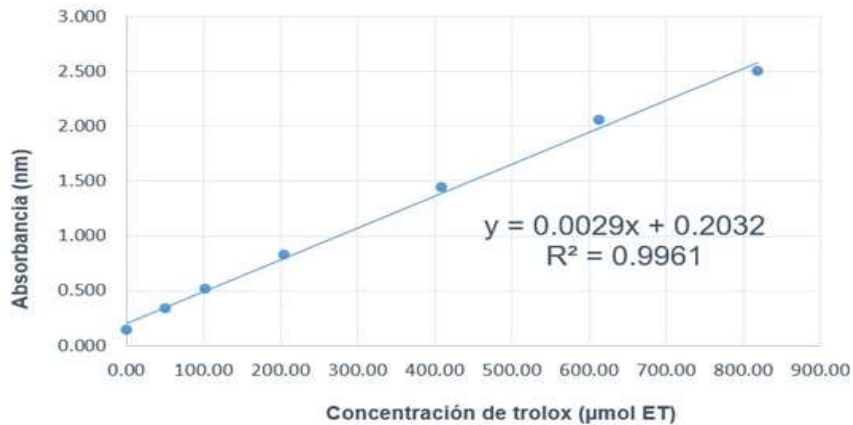
Curva de calibración para determinar el secuestro del radical ABTS.



Secuestro del radical ABTS de los compuestos fenólicos de tallos y hojas de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra".

**Anexo 8.** Esquema para la evaluación de la actividad antioxidante por el método FRAP de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra". Ayacucho – 2022.

Curva de calibración para determinar el potencial antioxidante reductor del hierro (FRAP).



Reducción del hierro de los compuestos fenólicos de tallos y hojas de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra"

**Anexo 9.** Prueba de normalidad Shapiro – Wilk, prueba de T student´s y prueba de homogeneidad de varianza para fenoles totales y flavonoides del extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.

<b>Prueba de normalidad</b>				
		<b>Shapiro-Wilk</b>		
		Estadístico	gl	Sig.
<b>Fenoles Totales</b>	Hojas	0.940	9	0.583
	Tallos	0.950	9	0.692
<b>Flavonoides</b>	Hojas	0.887	9	0.184
	Tallos	0.840	9	0.058

<b>Prueba T para muestras independientes</b>							
prueba t para la igualdad de medias							
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
						Inferior	Superior
<b>Fenoles Totales</b>	139.214	16	0.000	252.00222	1.81018	248.16481	255.83964
<b>Flavonoides</b>	178.801	16	0.000	247.67778	1.38521	244.74126	250.61429

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
<b>Fenoles Totales</b>	Se basa en la media	1.772	1	16	0.202
<b>Flavonoides</b>	Se basa en la media	0.423	1	16	0.525

**Anexo 10.** Prueba de normalidad Shapiro – Wilk, prueba de T student’s y prueba de homogeneidad de varianza para la capacidad antioxidante equivalente a trolox (TEAC) del ensayo de DPPH de los compuestos fenólicos de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.

Prueba de normalidad				
		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
<b>umolET. DPPH</b>	Hojas	0.956	9	0.755
	Tallos	0.867	9	0.114
<b>% DPPH</b>	Hojas	0.956	9	0.751
	Tallos	0.866	9	0.112
<b>umolET. ABTS</b>	Hojas	0.840	9	0.058
	Tallos	0.870	9	0.122
<b>% ABTS</b>	Hojas	0.840	9	0.058
	Tallos	0.870	9	0.123
<b>umolET. FRAP</b>	Hojas	0.937	9	0.546
	Tallos	0.892	9	0.210

Prueba de muestras independientes							
prueba t para la igualdad de medias							
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
						Inferior	Superior
<b>umolET.DPPH</b>	131.936	16	0.000	134.81556	1.02183	132.64938	136.98173
<b>% DPPH</b>	131.928	16	0.000	14.32944	0.10862	14.09919	14.55970
<b>umolET.ABTS</b>	96.800	16	0.000	250.34444	2.58620	244.86195	255.82693
<b>% ABTS</b>	96.793	16	0.000	35.19833	0.36365	34.42744	35.96923
<b>umolET.FRAP</b>	476.767	16	0.000	337.77667	0.70847	336.27477	339.27856

Prueba de homogeneidad de varianzas						
		Estadístico de Levene		gl1	gl2	Sig.
<b>umolET.DPPH</b>	Se basa en la media	1.227	1	16	0.284	
<b>% DPPH</b>	Se basa en la media	1.235	1	16	0.283	
<b>umolET.ABTS</b>	Se basa en la media	0.765	1	16	0.395	
<b>% ABTS</b>	Se basa en la media	0.766	1	16	0.395	
<b>umolET.FRAP</b>	Se basa en la media	0.370	1	16	0.552	

**Anexo 11.** Procedimiento del efecto sobre la fertilidad del extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" en ratas Holtzman. Ayacucho – 2022.



1 Preparación de los extractos de hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra"



2 Pesar y marcar a los animales



3 Administración del extracto atomizado de hojas y tallos vía oral durante 18 días



4 Recolección de sangre de las ratas, mediante punción cardiaca



5 Sacrificado de animales tras culminar el trabajo

- Estradiol
- Progesterona
- Testosterona
- FSH
- LH

6 Dosaje de hormonas



**Anexo 12.** Análisis de Varianza (ANOVA) del efecto sobre el nivel de la hormona testosterona, progesterona, estradiol, LH, FSH en ratas hembras *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Testosterona	Entre grupos	,003	7	,000	4,910	,001
	Dentro de grupos	,002	24	,000		
	Total	,005	31			
Progesterona	Entre grupos	18,855	7	2,694	31,421	,000
	Dentro de grupos	2,057	24	,086		
	Total	20,913	31			
Estradiol	Entre grupos	110,441	7	15,777	84,508	,000
	Dentro de grupos	4,481	24	,187		
	Total	114,922	31			
LH	Entre grupos	3,705	7	,529	41,171	,000
	Dentro de grupos	,309	24	,013		
	Total	4,014	31			
FSH	Entre grupos	7,289	7	1,041	28,864	,000
	Dentro de grupos	,866	24	,036		
	Total	8,155	31			

**Anexo 13.** Análisis de Varianza (ANOVA) del efecto sobre el nivel de la hormona testosterona, progesterona, estradiol, LH, FSH en ratas machos *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Testosterona	Entre grupos	5,874	7	,839	69,709	,000
	Dentro de grupos	,289	24	,012		
	Total	6,163	31			
Progesterona	Entre grupos	,005	7	,001	7,967	,000
	Dentro de grupos	,002	24	,000		
	Total	,007	31			
Estradiol	Entre grupos	4,264	7	,609	17,910	,000
	Dentro de grupos	,816	24	,034		
	Total	5,080	31			
LH	Entre grupos	1,422	7	,203	67,644	,000
	Dentro de grupos	,072	24	,003		
	Total	1,494	31			
FSH	Entre grupos	1,060	7	,151	72,472	,000
	Dentro de grupos	,050	24	,002		
	Total	1,110	31			

**Anexo 14.** Prueba de Tukey para el efecto sobre el nivel de la hormona testosterona en ratas *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

	TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
<b>Ratas hembras</b>	E.A HOJAS 100 MG/KG (H)	4	,02250		
	E.A HOJAS 50 MG/KG (H)	4	,02375		
	E.A TALLOS 100 MG/KG (H)	4	,02500		
	E.A TALLOS 50 MG/KG (H)	4	,03125	,03125	
	BLANCO (H)	4	,03375	,03375	
	E.A TALLOS 25 MG/KG (H)	4	,04250	,04250	
	ST METOCLOPRAMIDA 15 MG/KG (H)	4	,04300	,04300	
	E.A HOJAS 25 MG/KG (H)	4		,05125	
	Sig.		,087	,101	
	TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
<b>Ratas machos</b>	ST METOCLOPRAMIDA 15 MG/KG (M)	4	,29500		
	BLANCO (M)	4	,31250		
	E.A HOJAS 25 MG/KG (M)	4	,45500		
	E.A TALLOS 25 MG/KG (M)	4	,52500	,52500	
	E.A TALLOS 50 MG/KG (M)	4		,72000	
	E.A HOJAS 50 MG/KG (M)	4		,77000	
	E.A TALLOS 100 MG/KG (M)	4			1,43250
	E.A HOJAS 100 MG/KG (M)	4			1,43250
	Sig.		,103	,069	1,000

**Anexo 15.** Análisis de Varianza (ANOVA) del efecto sobre el nivel de la hormona progesterona en ratas *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

	TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
			1	2	3	4
<b>Ratas hembras</b>	BLANCO (H)	4	,40000			
	ST METOCLOPRAMIDA 15 MG/KG (H)	4	,49750	,49750		
	E.A HOJAS 25 MG/KG (H)	4	,72500	,72500	,72500	
	E.A TALLOS 25 MG/KG (H)	4		1,10750	1,10750	
	E.A TALLOS 50 MG/KG (H)	4		1,17500	1,17500	
	E.A HOJAS 50 MG/KG (H)	4			1,22500	
	E.A HOJAS 100 MG/KG (H)	4				2,50000
	E.A TALLOS 100 MG/KG (H)	4				2,50000
	Sig.		,763	,054	,279	1,000

	TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
<b>Ratas machos</b>	E.A TALLOS 100 MG/KG (M)	4	,01000		
	E.A TALLOS 50 MG/KG (M)	4	,01100		
	E.A HOJAS 50 MG/KG (M)	4	,01225		
	E.A HOJAS 100 MG/KG (M)	4	,02000	,02000	
	E.A HOJAS 25 MG/KG (M)	4	,02700	,02700	,02700
	ST METOCLOPRAMIDA 15 MG/KG (M)	4	,03100	,03100	,03100
	E.A TALLOS 25 MG/KG (M)	4		,04050	,04050
	BLANCO (M)	4			,04225
	Sig.		,060	,071	,313

**Anexo 16.** Prueba de Tukey del efecto sobre el nivel de la hormona estradiol en ratas *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

	TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05						
			1	2	3	4	5	6	
<b>Ratas hembras</b>	BLANCO (H)	4	4,42500						
	ST METOCLOPRAMIDA 15 MG/KG (H)	4	5,30000	5,30000					
	E.A TALLOS 25 MG/KG (H)	4		5,45000					
	E.A HOJAS 25 MG/KG (H)	4		5,89250	5,89250				
	E.A HOJAS 50 MG/KG (H)	4			6,90000	6,90000			
	E.A TALLOS 50 MG/KG (H)	4				6,97500			
	E.A TALLOS 100 MG/KG (H)	4					8,77500		
	E.A HOJAS 100 MG/KG (H)	4						10,42500	
	Sig.			,125	,539	,052	1,000	1,000	1,000
	<hr/>								
	TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05						
			1	2	3	4			
<b>Ratas machos</b>	E.A TALLOS 100 MG/KG (M)	4	0.80750						
	E.A HOJAS 100 MG/KG (M)	4	0.99000	0.99000					
	E.A TALLOS 50 MG/KG (M)	4		1.26750	1.26750				
	E.A HOJAS 50 MG/KG (M)	4		1.34750	1.34750				
	E.A TALLOS 25 MG/KG (M)	4			1.58500	1.58500			
	BLANCO (M)	4			1.69750	1.69750			
	ST METOCLOPRAMIDA 15 MG/KG (M)	4				1.78500			
	E.A HOJAS 25 MG/KG (M)	4				1.91000			
	Sig.			0.849	0.158	0.052	0.246		

**Anexo 17.** Prueba de Tukey del efecto sobre el nivel de la hormona luteinizante (LH) en ratas *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
E.A TALLOS 100 MG/KG (H)	4	1,00000					
E.A HOJAS 100 MG/KG (H)	4	1,07000	1,07000				
E.A TALLOS 25 MG/KG (H)	4		1,32500	1,32500			
E.A HOJAS 25 MG/KG (H)	4			1,52000	1,52000		
ST METOCLOPRAMIDA 15 MG/KG (H)	4				1,62500	1,62500	
BLANCO (H)	4				1,77500	1,77500	1,77500
E.A TALLOS 50 MG/KG (H)	4					1,87750	1,87750
E.A HOJAS 50 MG/KG (H)	4						1,98000
Sig.		,986	,066	,271	,066	,071	,220

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
E.A TALLOS 100 MG/KG (M)	4	,27250					
E.A HOJAS 100 MG/KG (M)	4	,32000	,32000				
E.A TALLOS 50 MG/KG (M)	4		,41000				
E.A HOJAS 50 MG/KG (M)	4			,55250			
E.A TALLOS 25 MG/KG (M)	4			,64500	,64500		
E.A HOJAS 25 MG/KG (M)	4				,72500	,72500	
BLANCO (M)	4					,82500	,82500
ST METOCLOPRAMIDA 15 MG/KG (M)	4						,86000
Sig.		,916	,322	,291	,463	,211	,983

**Anexo 18.** Prueba de Tukey del efecto sobre el nivel de la hormona folículo estimulante (FSH) en ratas *Holtzman* con tratamiento de extracto atomizado de hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra” administrado por vía oral durante 18 días. Ayacucho – 2022.

	TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
			1	2	3	4
Ratas hembras	E.A TALLOS 100 MG/KG (H)	4	,84000			
	E.A HOJAS 100 MG/KG (H)	4	,85750			
	BLANCO (H)	4		1,43500		
	E.A TALLOS 50 MG/KG (H)	4		1,71750	1,71750	
	ST METOCLOPRAMIDA 15 MG/KG (H)	4		1,72500	1,72500	
	E.A HOJAS 50 MG/KG (H)	4		1,74250	1,74250	
	E.A HOJAS 25 MG/KG (H)	4			2,11000	2,11000
	E.A TALLOS 25 MG/KG (H)	4				2,20000
	Sig.		1,000	,339	,112	,997

	TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
			1	2	3	4	5	6
	E.A TALLOS 100 MG/KG (M)	4	,20000					
	E.A HOJAS 100 MG/KG (M)	4	,22000	,22000				
	E.A TALLOS 50 MG/KG (M)	4	,27000	,27000				
	E.A HOJAS 50 MG/KG (M)	4		,31250	,31250			
	E.A TALLOS 25 MG/KG (M)	4			,41500	,41500		
	E.A HOJAS 25 MG/KG (M)	4				,50000	,50000	
	ST METOCLOPRAMIDA 15 MG/KG (M)	4					,55750	
	BLANCO (M)	4						,76500
	Sig.		,405	,126	,067	,194	,639	1,000

**Anexo 19.** Matriz de consistencia: Efecto antioxidante y sobre la fertilidad del extracto atomizado de las hojas y tallos de *Cnidoscopus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra". Ayacucho - 2022.

Título	Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Marco teórico	Metodología
Efecto antioxidante y sobre la fertilidad del extracto atomizado de hojas y tallos de <i>Cnidoscopus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" Ayacucho 2022.	¿Tendrán efecto antioxidante y sobre la fertilidad el extracto atomizado de las hojas y tallos de <i>Cnidoscopus diacanthus</i> (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra"?	<p><b>Objetivos generales</b></p> <p>Evaluar el efecto antioxidante del extracto atomizado de las hojas y tallos de <i>Cnidoscopus diacanthus</i> (Pax. &amp; Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra".</p> <p><b>Objetivos específicos</b></p> <p>Determinar el contenido de compuestos fenólicos: flavonoides y fenoles totales del tallo y hojas de <i>Cnidoscopus diacanthus</i> (Pax. &amp; Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra".</p> <p>Establecer la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos con modelos de DPPH, ABTS Y FRAP.</p> <p>Determinar el efecto de las hojas y tallos de <i>Cnidoscopus diacanthus</i> (Pax. &amp; Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" sobre la testosterona, progesterona, estradiol, FSH y LHI en ratas.</p> <p>Comparar el efecto de las hojas y tallos de <i>Cnidoscopus diacanthus</i> (Pax. &amp; Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" con la metoclopramida.</p>	<p>Hi: El extracto atomizado de <i>Cnidoscopus diacanthus</i> (Pax. &amp; Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" poseen efecto antioxidante y sobre la fertilidad en ratas.</p> <p>Ho: el extracto atomizado de <i>Cnidoscopus diacanthus</i> (Pax. &amp; Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra" no poseen efecto antioxidante y sobre la fertilidad en ratas.</p>	<p><b>Variable Independiente</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Extracto atomizado de hojas y tallos <i>Cnidoscopus diacanthus</i> (Pax. &amp; Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra".</li> </ul> <p>Indicador: mg de muestra.</p> <p><b>Variable dependiente</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Efecto antioxidante y sobre la fertilidad.</li> </ul> <p>Indicador:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Captación del radical libre DPPH expresado como µgET/g de muestra.</li> <li>Captación del radical libre ABTS expresado como µgET/g de muestra.</li> <li>Capacidad Reductora del Hierro (FRAP) expresado como µgET/g de muestra</li> <li>Niveles de progesterona, testosterona, estradiol (ng/dL y ng/ml), FSH y LH ( mIU/mL)</li> </ul>	<p><i>Cnidoscopus diacanthus</i> (Pax. &amp; Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra"</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Características de la familia Euphorbiaceae</li> <li>Distribución</li> <li>Propiedades farmacológicas</li> <li>Descripción botánica</li> <li>Usos tradicionales</li> <li>Radicales libres</li> <li>Fuentes de radicales libres</li> <li>Antioxidantes</li> <li>Estrés oxidativo</li> <li>Mecanismo de los oxidantes</li> <li>Antioxidantes</li> <li>Compuestos fenólicos</li> <li>Actividad antioxidante de los polifenoles</li> <li>Efecto de los antioxidantes sobre la salud</li> <li>Métodos para determinar la actividad antioxidante</li> <li>Hormonas sexuales y fertilidad</li> <li>Metoclopramida</li> </ul>	<p>Nivel de investigación</p> <p>Básico – experimental</p> <p>Población</p> <p><i>Cnidoscopus diacanthus</i> (Pax. &amp; Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra"</p> <p>Muestra: se tomará 700 g de hojas y 800 g de tallos de <i>Cnidoscopus diacanthus</i> (Pax. &amp; Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra".</p> <p>Los extractos atomizados serán obtenidos por maceración, previo molido de tallos y hojas según metodología de Miranda y Lock de Ugaz (1994).</p> <p><b>MÉTODO</b></p> <p>Determinación del contenido de compuestos fenólicos</p> <p>Establecimiento de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinación de la actividad antioxidante por el método de secuestro de radical libre (2,2-difenil – picrilhidrazilo) (DPPH).</li> <li>Determinación de la actividad antioxidante por el método de secuestro del catión radical (ácido 2,2 – azino – bis – (3 – etilbenzotiazolin) – 6 – sulfónico) (ATBS)</li> <li>Determinación de la actividad antioxidante por el método de reducción de hierro (FRAP).</li> <li>Determinación del efecto sobre la fertilidad en ratas.</li> </ul> <p><b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b></p> <p>Los resultados serán procesados mediante el test de Student cuando sigan una distribución normal y de U – Mann Whitney, y para el efecto sobre la fertilidad el Análisis de varianza (ANOVA), TUKEY y la prueba de diferencia múltiple de la significancia será evaluada al 95% de confianza (P&lt;0.05), se utilizará el software SPSS versión 26 en entorno Windows.</p>



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

### RESOLUCIÓN DECANAL N°563-2023-UNSC-FCSA-D

**BACHILLER:** DIANA TABOADA HUAMAN

En la ciudad de Ayacucho, siendo las ocho y cinco de la mañana del día siete del mes de julio del año dos mil veintitrés, se reunieron en el auditorium de la Facultad de Ciencias de la Salud los docentes miembros del jurado evaluador, para el acto de sustentación del trabajo de tesis titulado: "**Efecto antioxidante y sobre la fertilidad del extracto atomizado de las hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra"**", presentado por la bachiller **DIANA TABOADA HUAMAN** para optar el título profesional de Químico Farmacéutica. El jurado evaluador está conformado por:

Presidente :Prof. Maricela López Sierralta  
Miembros :Prof. José Alejandro Yarlequé Mujica  
Prof. Stephany Massiell Barbarán Vilcatoma  
4to jurado :Prof. Juan Clímaco Paniagua Segovia  
Asesor :Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo  
Secretaria Docente :Prof. Tania Mendoza Almeida

Con el quorum de reglamento se dio inicio la sustentación de tesis, el presidente de la comisión pide a la secretaria docente dar lectura a los documentos presentados por el recurrente, resolución decanal y algunas indicaciones al sustentante.

Da inicio la exposición la Bachiller: **Diana Taboada Huamán**, y una vez concluida, el presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas, seguidamente se da pase al asesor de tesis, para que pueda aclarar algunas preguntas, interrogantes, aclaraciones.

El presidente invita a la sustentante abandonar el auditorium para que pueda proceder con la calificación.

### RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN FINAL

Bachiller: **DIANA TABOADA HUAMAN**

JURADOS	Texto	Exposición	Preguntas	P. Final
Prof. Maricela López Sierralta	17	19	18	18
Prof. José A. Yarlequé Mujica	18	18	17	18
Prof. Stephany M. Barbarán Vilcatoma	18	18	18	18
Prof. Juan C. Paniagua Segovia	19	19	19	19
Prof. Johnny A. Tinco Jayo	19	19	19	19
<b>PROMEDIO FINAL</b>				<b>18</b>

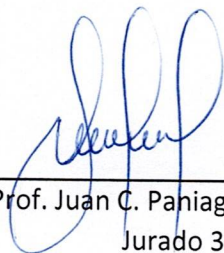
De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar a la Bachiller **DIANA TABOADA HUAMAN**; quien obtuvo la nota final de dieciocho (18) para la cual los miembros del jurado evaluador firman al pie del presente, siendo las 9:45 de la mañana, se da por concluido el presente acto académico.



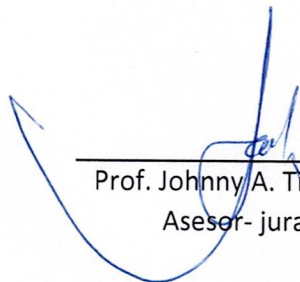
Prof. José A. Yarlequé Mujica  
Jurado 1



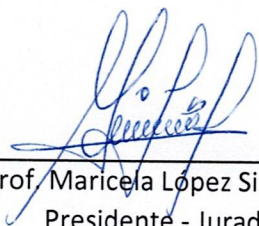
Prof. Stephany M. Barbarán  
Vilcatoma  
Jurado 2



Prof. Juan C. Paniagua Segovia  
Jurado 3



Prof. Johnny A. Tinco Jayo  
Asesor- jurado



Prof. Maricela López Sierralta  
Presidente - Jurado



Prof. Tania Mendoza Almeida  
Secretaria docente

**UNSCH**FACULTAD DE  
CIENCIAS DE LA SALUDESCUELA PROFESIONAL DE  
FARMACIA Y BIOQUÍMICADOCENTES INSTRUCTORES  
DEL SOFTWARE ANTIPLAGIO

## CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD PRIMERA INSTANCIA DE TRABAJO DE TESIS - 010 - 2023

El suscrito docente – instructor responsable de operativizar, verificar, garantizar y controlar la originalidad de los trabajos de tesis de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica designado por Resolución Decanal N° 0453 – 2023 – UNSCH – FCSA/D de fecha 15 de mayo de 2023, deja constancia que el trabajo de tesis titulado: “Efecto antioxidante y sobre la fertilidad del extracto atomizado de las hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022.”

Autor: Bach. **Diana TABOADA HUAMAN**

Asesor: Profesor **Johnny Aldo TINCO JAYO**

Ha sido sometido al análisis del sistema antiplagio TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **20 % de Índice de Similitud**.

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 13 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga es procedente conceder **la Constancia de Originalidad en Primera Instancia**.

Ayacucho, 11 de junio de 2023

Firmado  
digitalmente por  
Enrique Javier  
Aguilar Felices  
Fecha:  
2023.06.11  
23:01:56 -05'00'

**Mg. Enrique Javier AGUILAR FELICES**  
Docente – Instructor



**UNSCH**

FACULTAD DE  
CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE  
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD SEGUNDA INSTANCIA:**  
**TESIS DE PREGRADO**

**(C°23-2023-EPFB-UNSCH)**

La que suscribe, directora de escuela y docente instructor en segunda instancia de Tesis de Pregrado, luego de verificar la originalidad de la tesis de la Escuela profesional de Farmacia y bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en representación de la decana y delegada por Resolución Decanal N° 077-2021-UNSCH-FCSA/D, deja constancia que el trabajo de tesis titulado:

**Efecto antioxidante y sobre la fertilidad del extracto atomizado de las hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. “huanarpo hembra”. Ayacucho – 2022**

Presentado por: Bach. TABOADA HUAMAN, Diana

Ha sido sometido al análisis mediante el sistema TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **17% de índice de similitud.**

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 13° del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de pregrado de la UNSCH. Por tanto, **ES PROCEDENTE** conceder la Constancia de originalidad en segunda instancia.

Ayacucho, 19 de junio del 2023



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANCA  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

*Mg. Maricela López Sierralta*  
DIRECTORA  
Docente. Instructor  
Segunda instancia

cc.  
Archivo.

Efecto antioxidante y sobre la  
fertilidad del extracto  
atomizado de las hojas y tallos  
de *Cnidoscolus diacanthus*  
(Pax. & Hoffm.) Macbr.  
“huanarpo hembra”.Ayacucho -  
2022

*por* Diana Taboada Huaman

---

**Fecha de entrega:** 17-jun-2023 08:11a.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2117779786

**Nombre del archivo:** TESIS\_DIANA\_TABOADA\_HUAMAN.pdf (2.33M)

**Total de palabras:** 19530

**Total de caracteres:** 104808

# Efecto antioxidante y sobre la fertilidad del extracto atomizado de las hojas y tallos de *Cnidocolus diacanthus* (Pax. & Hoffm.) Macbr. "huanarpo hembra". Ayacucho – 2022

## INFORME DE ORIGINALIDAD

17%

INDICE DE SIMILITUD

19%

FUENTES DE INTERNET

7%

PUBLICACIONES

9%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	6%
2	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	5%
3	desego.com Fuente de Internet	1%
4	revistas.sqperu.org.pe Fuente de Internet	1%
5	scielo.isciii.es Fuente de Internet	1%
6	dspace.ucuenca.edu.ec Fuente de Internet	1%
7	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
8	docs.bvsalud.org Fuente de Internet	<1%

9	<a href="http://ciatej.repositorioinstitucional.mx">ciatej.repositorioinstitucional.mx</a> Fuente de Internet	< 1%
10	<a href="http://www.scielo.org.pe">www.scielo.org.pe</a> Fuente de Internet	< 1%
11	<a href="http://repository.udca.edu.co">repository.udca.edu.co</a> Fuente de Internet	< 1%
12	<a href="http://www.uanl.mx">www.uanl.mx</a> Fuente de Internet	< 1%
13	<a href="http://tesis.ipn.mx">tesis.ipn.mx</a> Fuente de Internet	< 1%
14	<a href="http://www.annardx.com">www.annardx.com</a> Fuente de Internet	< 1%
15	<a href="http://www.labindustrias.com">www.labindustrias.com</a> Fuente de Internet	< 1%
16	<a href="http://docplayer.es">docplayer.es</a> Fuente de Internet	< 1%
17	<a href="http://rpm.pe">rpm.pe</a> Fuente de Internet	< 1%
18	<a href="http://core.ac.uk">core.ac.uk</a> Fuente de Internet	< 1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 30 words

Excluir bibliografía

Activo