

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



Actividad antioxidante y antiviral del extracto
hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género
Cinchona del distrito de Samugari - Ayacucho 2020.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESNETADO POR:

Bach. MIGUEL YUPANQUI, Mitza

ASESOR:

Doc. Emilio G. RAMIREZ ROCA

AYACUCHO – PERÚ

2022

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
RESOLUCIÓN DECANAL N° 122 -2022-FCSA-UNSCH-D

BACHILLER: **MIGUEL YUPANQUI, Mitza**

En la ciudad de Ayacucho, siendo las ocho de la mañana del día veintiocho del mes de enero del año dos mil veintidos, se reunieron a través de la plataforma virtual los docentes miembros del jurado de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado: "Actividad antioxidante y antiviral del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* del distrito de Samugari - Ayacucho 2020." Presentado por el bachiller **Mitza MIGUEL YUPANQUI** para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Los miembros del Jurado de Sustentación conformado por:

Presidenta : Prof. Maricela López Sierralta

Miembros : Prof. Marco Arones Jara

Prof. Juan C. Paniagua Segovia

Asesor : Prof. Emilio Germán Ramírez Roca

Secretario Docente (e): Juan C. Paniagua Segovia

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

Da inicio la exposición el Bachiller: Mitza MIGUEL YUPANQUI, una vez concluida. El presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas, seguidamente da pase al asesor de tesis Profesor Emilio G. Ramírez Roca, para que pueda aclarar algunas preguntas, interrogantes, aclaraciones.

La presidenta invita al sustentante abandonar el espacio virtual para que puedan proceder con la calificación.

RESULTADO DE LA EVALUACIÓN FINAL

Bachiller: **Mitza MIGUEL YUPANQUI**

JURADOS	TEXTO	EXPOSICIÓN	PREGUNTAS	P. FINAL
Prof. Maricela López Sierralta	17	18	18	18
Prof. Marco Arones Jara	18	18	18	18
Prof. Juan C. Paniagua Segovia	18	18	18	18
Prof. Emilio Germán Ramírez Roca	18	18	18	18
PROMEDIO FINAL				18

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar al Bachiller **Mitza MIGUEL YUPANQUI**; Quien obtuvo la nota final de

diecisecho (18) para la cual los miembros del jurado evaluador firman al pie del presente, siendo las 9:50 de la mañana, se da por concluido el presente acto académico virtual.



Firmado digitalmente por Marco R. Aronés Jara
Fecha: 2022.03.29 11:13:46 -05'00'

Jurado 1
Prof. Marco Aronés Jara



Firmado digitalmente por Juan C. Paniagua Segovia
Fecha: 2022.01.28 10:04:01 -05'00'

Jurado 2
Prof. Juan C. Paniagua Segovia



Firmado digitalmente por Dr. Emilio G. Ramírez Roca
Fecha: 2022.01.28 15:46:39 -05'00'

Jurado 3
Prof. Emilio Germán Ramírez Roca



Firmado digitalmente por MARICELA LÓPEZ SIERRALTA
Fecha: 2022.04.07 11:43:11 -05'00'

Presidente
Prof. Maricela López Sierralta



Firmado digitalmente por Juan C. Paniagua Segovia
Fecha: 2022.01.28 10:04:18 -05'00'

Secretario(a) Docente
Prof. Juan C. Paniagua Segovia

Se lo dedico a quienes me inspiraron,
a quienes me ayudaron a llegar a
donde he llegado, a mi madre y
hermano que son mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi *alma mater*, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por mi formación académica en pro de mi desarrollo profesional.

A la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, a mis docentes que fueron grandes maestros y guías por el apoyo brindado.

A mis asesores Dr. Q.F. Emilio RAMÍREZ ROCA y al Dr. Blgo. José ALARCÓN GUERERO, al Dr. Q.F. ARONES JARA, Marco R. por su valiosa colaboración, asesoramiento, cordialidad, apoyo, enseñanza, amistad y amabilidad brindada.

A mi madre por ser parte fundamental de mi desarrollo, quien con su vida me inspira y fortalece, por su infinito amor, sacrificio, esfuerzo y por el apoyo incondicional para cumplir con mis objetivos en mi vida personal y desarrollo profesional.

A mi hermano por ser mi amigo, compañero y por animarme a seguir a cumplir mis metas.

A Dios y a todas las personas que me apoyaron en esta etapa importante de mi vida e hicieron posible la culminación de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTOS	5
ÍNDICE GENERAL	7
ÍNDICE DE TABLAS	9
ÍNDICE DE FIGURAS	11
ÍNDICE DE ANEXOS	13
RESUMEN	17
I. INTRODUCCION	1
I.1. Objetivos	2
I.1.1. Objetivo general	2
I.1.2. Objetivos específicos	2
II. MARCO TEORICO	3
II.1. Antecedentes del estudio	3
II.2. Aspectos botánicos de <i>Cinchona officinalis</i> L.	5
II.2.1. Clasificación sistémica	5
II.2.2. Descripción botánica	5
II.2.3. Composición química y bioactividad	6
II.2.4. Usos en la medicina tradicional	6
II.3. Aspectos botánicos de <i>Cinchona pubescens</i> Vahl.	6
II.3.1. Clasificación sistémica	6
II.3.2. Descripción botánica	7
II.3.4. Usos en la medicina tradicional	8
II.4. Metabolitos secundarios	8
II.4.1. Compuestos fenólicos	9
II.5. Radical libre	9
II.6. Estrés oxidativo	10
II.7. Antioxidante	10
II.7.1. Mecanismo de acción de los antioxidantes	11
II.8. Ensayos para evaluar la actividad antioxidante	12
II.8.1. DPPH (2,2-difenyl-1-picrylhydrazyl)	12
II.8.2. ABTS (Radical catiónico 2,2' - azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diamonium salt 98%)	13
II.9. Virus	13
II.9.1. Ensayo celular para evaluar la actividad antiviral	14

III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
III.1. Ubicación	15
III.2. Población y muestra	15
III.2.1. Población	15
III.2.2. Criterios de inclusión y exclusión	15
III.2.3. Muestra	15
III.2.4. Unidad de análisis	16
III.2.5. Sistema de muestreo	16
III.3. Métodos instrumentales para la recolección de datos	16
III.3.1. Recolección y preparación de la muestra	16
III.3.2. Obtención del extracto atomizado de las hojas de las dos especies del género <i>Cinchona</i>	16
III.4. Identificación fitoquímica	16
III.5. Determinación del contenido de fenoles totales	18
III.6. Determinación del contenido de flavonoides totales	19
III.7. Determinación de la actividad antioxidante y actividad antiviral	20
III.7.1. Ensayo de captación del radical 2,2-difenil-1-picril hidracilo (DPPH)	20
III.7.2. Ensayo de captación del radical 2,2 - azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio) (ABTS)	21
III.7.3. Ensayo de la actividad antiviral	22
III.8. Análisis estadístico	23
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	33
VI. CONCLUSIONES	41
VII. RECOMENDACIONES	43
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	45
IX. ANEXOS	49

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1:	Clasificación sistémica <i>Cinchona officinalis</i> L. “quina o cascarilla verde”	5
Tabla 2:	Clasificación sistémica <i>Cinchona pubescens</i> Vahl. “quina o cascarilla colorada”	6
Tabla 3:	Identificación de metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género <i>Cinchona</i> “quina”, Ayacucho 2021	27
Tabla 4	Actividad antiviral, Unidades formadoras de placas por efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Cinchona officinalis</i> L. “cascarilla verde”, Ayacucho 2021	31
Tabla 5:	Actividad antiviral, Unidades formadoras de placas por efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Cinchona pubescens</i> Vahl. “cascarilla colorada”, Ayacucho 2021	32

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1:	Estructura química de los principales alcaloides presentes en la Cinchona 7
Figura 2:	Reacción del DPPH con el antioxidante 12
Figura 3:	Reacción del ABTS con el antioxidante 13
Figura 4	Contenido de fenoles totales y flavonoides totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género Cinchona "quina", Ayacucho 2021 28
Figura 5:	Actividad antioxidante por el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género Cinchona "quina", Ayacucho 2021 29
Figura 6:	Actividad antioxidante por el método ABTS del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género Cinchona "quina", Ayacucho 2021 30

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1: Certificado de identificación de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde”, Ayacucho 2020	51
Anexo 2: Certificado de identificación de <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020	52
Anexo 3: Hojas y frutos de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” en el Laboratorio de Bioquímica, Ayacucho 2020	53
Anexo 4: Hojas y flores de <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja” en el Laboratorio de Bioquímica, Ayacucho 2020	54
Anexo 5: Flujograma de procedimientos para la determinación de la actividad antioxidante y antiviral de los extractos de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” y <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020	55
Anexo 6: Procedimiento de la obtención del extracto hidroalcohólico de las especies <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” y <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja” en el Laboratorio del centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF), Ayacucho 2020	56
Anexo 7: Resultado de la identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” y <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja” en el Laboratorio de Bioquímica, Ayacucho 2020	57
Anexo 8: Cuantificación de fenoles totales y flavonoides del extracto hidroalcohólico de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” y <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja” en el Laboratorio del centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF), Ayacucho 2020	58
Anexo 9: Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” y <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja” en el Laboratorio del centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF), Ayacucho 2020	59
Anexo 10: Fotografías de la determinación de la actividad antioxidante por el método del radical ABTS de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” y <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja” en el Laboratorio del centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF), Ayacucho 2020	60
Anexo 11: Fotografías de la recolección del agua residual de la planta de tratamiento de totorilla y obtención del bacteriófago en los Laboratorios de Virología, Ayacucho 2020	61

Anexo 12:	Imagen del procedimiento de la actividad antiviral del extracto hidroalcohólico de las especies <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” y <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja” en los Laboratorios de Virología, Ayacucho 2020	62
Anexo 13:	Procedimiento para la obtención de la cepa hospedera <i>E. coli</i> ATCC 13706 en los Laboratorios de Virología, Ayacucho 2020	63
Anexo 14:	Procedimiento de la actividad antiviral del extracto hidroalcohólico de las especies <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” y <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja” en los Laboratorios de Virología, Ayacucho 2020	64
Anexo 15:	Resultados de la formación de Calvas o Unidades Formadoras de Placa de lisis por mL (UFP/mL) en los Laboratorios de Virología, Ayacucho 2020	65
Anexo 16:	Prueba de T Student de muestras independientes de la media del contenido de fenoles totales en hojas de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” y <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020	66
Anexo 17:	Prueba de T Student de muestras independientes de la media del contenido de flavonoides de hojas de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” y <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020	67
Anexo 18:	Análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método DPPH de hojas de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” y <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020	68
Anexo 19:	Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antioxidante por el método DPPH de hojas de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” y <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020	69
Anexo 20:	Análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método ABTS de hojas de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” y <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020	70
Anexo 21:	Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antioxidante por el método ABTS de hojas de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” y <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020	71
Anexo 22:	Media y desviación estándar de la actividad antiviral a un tiempo de exposición de 10 minutos de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde”, Ayacucho 2020	72
Anexo 23:	Análisis de varianza de la actividad antiviral de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” a un tiempo de exposición de 10 minutos, Ayacucho 2020	73

Anexo 24:	Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antiviral <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” a un tiempo de exposición de 10 minutos, Ayacucho 2020.	74
Anexo 25:	Media y desviación estándar de la actividad antiviral a un tiempo de exposición de 20 minutos de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde”, Ayacucho 2020	75
Anexo 26:	Análisis de varianza de la actividad antiviral de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” a un tiempo de exposición de 20 minutos, Ayacucho 2020	76
Anexo 27:	Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antiviral <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” a un tiempo de exposición de 20 minutos, Ayacucho 2020	77
Anexo 28:	Media y desviación estándar de la actividad antiviral a un tiempo de exposición de 40 minutos de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde”, Ayacucho 2020	78
Anexo 29:	Análisis de varianza de la actividad antiviral de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” a un tiempo de exposición de 40 minutos, Ayacucho 2020	79
Anexo 30:	Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antiviral <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” a un tiempo de exposición de 40 minutos, Ayacucho 2020	80
Anexo 31:	Media y desviación estándar de la actividad antiviral a un tiempo de exposición de 80 minutos de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde”, Ayacucho 2020	81
Anexo 32:	Análisis de varianza de la actividad antiviral de <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” a un tiempo de exposición de 80 minutos, Ayacucho 2020	82
Anexo 33:	Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antiviral <i>Cinchona officinalis</i> L “quina verde” a un tiempo de exposición de 80 minutos, Ayacucho 2020	83
Anexo 34:	Media y desviación estándar de la actividad antiviral a un tiempo de exposición de 10, 20, 40 y 80 minutos de <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020	84
Anexo 35:	Análisis de varianza de la actividad antiviral de <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020	85
Anexo 36:	Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antiviral <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja” a un tiempo de exposición de 10 y 20 minutos, Ayacucho 2020	86
Anexo 37:	Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antiviral <i>Cinchona pubescens</i> Vahl “quina roja” a un tiempo de exposición de 40 y 80 minutos, Ayacucho 2020	87
Anexo 38:	Matriz de consistencia	88

RESUMEN

El objetivo fue determinar la actividad antioxidante y antiviral del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* "quina". Las hojas fueron recolectadas en la comunidad de San Cristóbal del distrito de Samugari, provincia de la Mar, departamento de Ayacucho. La determinación de la actividad antioxidante se realizó por el método espectrofotométrico 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) y ácido 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS) y la actividad antiviral se determinó mediante el método de la inhibición del bacteriófago. La actividad antioxidante fue expresada como concentración mínima inhibitoria (CI₅₀), la *Cinchona officinalis* L mostró un CI₅₀ de 122,1 ± 9,32 y 203,1 ± 29,39 µg/mL y la *Cinchona pubescens* Vahl mostró un CI₅₀ de 104,9 ± 9,35 y 178,3 ± 10,74 para DPPH y ABTS respectivamente. La actividad antiviral para *Cinchona officinalis* L y *Cinchona pubescens* Vahl fue expresada en ufp existiendo diferencia estadística significativa entre los grupos de tratamiento ($p < 0,05$), al comparar los valores de ufp, *Cinchona officinalis* L muestra mayor actividad antiviral a la concentración de 0,32 mg/mL de muestra a un tiempo de 80 min. Se concluye que las hojas de *Cinchona officinalis* L y *Cinchona pubescens* Vahl son fuentes promisorias de componentes o principios activos (compuestos fenólicos) con actividad antioxidante y antiviral.

Palabras clave: Actividad antioxidante, actividad antiviral, bacteriófago, compuesto fenólico.

I. INTRODUCCION

La familia de las Rubiaceae considerando su diversidad viene a ser la cuarta más grande entre las fanerógamas contando unos 630 géneros y 10,200 especies, donde la mayoría de estas viven en zonas calientes. La importancia de estudiar el género *Cinchona* viene desde el siglo XVII debido al uso de su corteza y al poder de sus alcaloides frente al tratamiento de la malaria, además de ser la riqueza vegetal de nuestro país, siendo uno de los generos con 25 especies de las cuales se estudiaron a *Cinchona officinalis* L y *Cinchona pubescens* Vahl. ⁽¹⁾ Los arboles de *Cinchona* son originarios de los andes y se extiende en las dos cordilleras de los andes desde Colombia, Bolivia, Ecuador, Guatemala y en el Perú aproximadamente a alturas de 400 a 3400 m s.n.m. ⁽¹⁾

Evidencias empíricas de países como Colombia, Ecuador y Perú nos muestran el interés terapéutico que tiene la *Cinchona* donde se hace uso de sus flores y hojas secas en el tratamiento de la tos, la raíz fresca se usa para tratar el cáncer, la corteza seca se usa en el tratamiento de la malaria, de la fertilidad, de la potencia sexual, de la fiebre, de la artritis, para aliviar el dolor de bazo, entre otros. ⁽²⁾ Es a partir de estas evidencias que se encuentran algunos estudios realizados en Ecuador y Perú donde hacen uso de la corteza de *Cinchona* y reportan el contenido de compuestos químicos tales como alcaloides, triterpenos y esteroides, quinonas, catequinas, saponinas, taninos y flavonoides los cuales son responsables de importantes actividades terapéuticas. ^{(3), (4), (5)}

Estudios realizados por Ravishankara y Rajani sustentan que los extractos de la corteza de *Cinchona* tienen actividad antioxidante gracias a la presencia de polifenoles que son de suma importancia como los taninos que se sabe que tienen actividades biológicas incluidas la capacidad antioxidante. ⁽⁶⁾ En estudios del efecto antiviral De la Cruz sustenta que los triterpenos son responsables de la actividad antiviral debido a la notable disminución de calvas o UFP. ⁽⁷⁾

En la actualidad la mayoría de las enfermedades son producidas por el estrés oxidativo y son la causa de diversas enfermedades como el desbalance del sistema

oxidativo, el cáncer, etc, de la misma manera muchos de los virus causan enfermedades tanto en humanos como animales de importancia epidemiológica y económica.⁽⁶⁾ La generación de cepas virales resistentes a los medicamentos y las terapias son tan limitadas, que a menudo la única opción es el tratamiento sintomático, las especies vegetales al tener la capacidad de detener o retardar los procesos oxidativos y los daños producidos por los virus en una célula tienen una gran aplicación en el campo de la industria, la medicina entre otros. ⁽⁷⁾

Es a partir de la capacidad terapéutica que posee la *Cinchona* que se realizan estudios que mostrarán una posible actividad antioxidante y antiviral, las cuales aumentan la posibilidad de poder encontrar moléculas activas contra infecciones virales y con poder antioxidante para así lograr una actividad eficaz y así mejorar la calidad de vida de la población ayacuchana.

Este trabajo de investigación se realizó con la finalidad de generar más conocimientos científicos del género *Cinchona* sobre la actividad antioxidante y antiviral de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de dos especies del género *Cinchona*, de las cuales se estudiaron *Cinchona officinalis* L y *Cinchona pubescens* Vahl en Ayacucho, ya que diversas investigaciones muestran estudios en la corteza de *Cinchona*.

Los resultados obtenidos de esta investigación nos servirán de referencia y motivación para posteriormente realizar más estudios similares, a su vez aportar conocimiento de las especies del género *Cinchona* respecto a su potencial antioxidante y antiviral, de esta manera se ayudará a la población.

Por lo cual se desarrolló el estudio y se plantearon los siguientes objetivos.

I.1. Objetivos

I.1.1. Objetivo general

- Determinar la actividad antioxidante y antiviral del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona*.

I.1.2. Objetivos específicos

- Identificar cualitativamente los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona*.
- Evaluar la actividad antioxidante de los extractos mediante ensayos in vitro, DPPH y ABTS.
- Determinar la actividad antiviral del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* utilizando bacteriófagos como modelo enteroviral.

II. MARCO TEORICO

II.1. Antecedentes del estudio

Cifuentes ⁽³⁾ en el año 2013 en su investigación “Estudio de la composición química del tónico amargo de la corteza de quina roja (*Cinchona pubescens*)”, realizó el tamizaje fitoquímico y reportó la presencia de alcaloides (quinina, quinidina, cinchonina y cinconidina), triterpenos y esteroides, quinonas, catequinas, saponinas, taninos y flavonoides (apigenina, kaempferol y quercetina). Concluyó que los métodos utilizados son válidos para la identificación de alcaloides y flavonoides. Esta investigación servirá para comparar el estudio fitoquímico de las especies en estudio ya que emplearemos métodos similares.

Romero ⁽⁴⁾ en el año 2018 en su estudio “Efecto del extracto metanólico de la corteza de *Cinchona officinalis* L. (Cascarilla) en el comportamiento sexual de ratas machos”, reportó la presencia de metabolitos secundarios tales como esteroides, triterpenoides, saponinas, alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos. Además, determinó que la administración de 300 mg/Kg del extracto por vía oral es la dosis óptima que produce mayor efecto sobre comportamiento sexual en las ratas machos. Concluyó que el extracto de corteza de *Cinchona officinalis* L. tiene efecto en el comportamiento sexual de ratas machos confirmando el uso tradicional de esta planta. Esta investigación servirá para comparar el estudio fitoquímico de las especies en estudio ya que emplearemos métodos similares.

Cuyubamba et al ⁽⁵⁾ en el año 2009 en su investigación “Estudio químico de los tallos de *Cinchona pubescens* Vahl”, realizó el análisis cualitativo de los metabolitos secundarios, reportando la presencia de alcaloides (+++), grupos amino primarios y/o secundarios (+), grupos fenólicos libres (+), taninos (++) , triterpenos y esteroides (+), quinonas, antraquinonas (+), catequinas (+), flavonoides (+) y saponinas (+). Esta investigación servirá para comparar el estudio fitoquímico de las especies en estudio ya que emplearemos métodos similares.

Ravishankara y Rajani ⁽⁶⁾ en el año 2003 en su estudio “Actividad antioxidante de los extractos de corteza de tallo de *Cinchona officinalis*”, reportaron el contenido de compuestos fenólicos de los extractos metanólicos y acuosos con valores de 21,37 y 5,18% p/p respectivamente; así mismo reportaron la actividad antioxidante mediante el método de DPPH con un valor de CI₅₀ de 8,08 µg/mL y 64,19 µg/mL respectivamente. Llegaron a la conclusión que los compuestos fenólicos, incluidos los taninos presentes en la corteza de *Cinchona officinalis*, parecen ofrecer protección contra el daño oxidativo. Esta investigación servirá para comparar el estudio fitoquímico y la actividad antioxidante de las especies en estudio ya que emplearemos métodos similares.

De la cruz ⁽⁷⁾ en el año 2009 en su estudio “Efecto antiviral del extracto alcohólico y acuoso de *Piper elongatum* L. (matico)”, utilizó el método de recuento de calvas con un modelo viral de colifagos de *Escherichia coli*, a su vez realizó la medición de la concentración mínima inhibitoria (CI₅₀) para cada extracto, reportando que las concentraciones de 100% y 50% de los extractos tienen efecto antiviral. Concluyó que, a mayor concentración del extracto y tiempo de reacción con los bacteriófagos, menor es el número de calvas o unidad formadora de placa de lisis (UFP/mL), donde el extracto acuoso permitió mayor efecto antiviral. Esta investigación servirá para comparar la actividad antiviral de las especies en estudio ya que emplearemos métodos similares.

Barukcic y Sola ⁽⁸⁾ en el año 2015 en su estudio “Desarrollo de formulaciones fitocosméticas antioxidantes empleando como sustancia activa el extracto seco de *Cinchona pubescens* Vahl, RUBIACEAE (Cascarilla)”, reportaron concentraciones de compuestos fenólicos de 30 mg GAE/g y flavonoides de 2 mg Hyp/g ; así mismo determinaron la actividad antioxidante por los métodos espectrofotométricos de DPPH y ABTS mostraron un CI₅₀ de 42,00 ± 0,2 µg/mL y 88,00 ± 0,2 µg/mL respectivamente. Concluyeron que los geles elaborados a partir de *Cinchona pubescens* Vahl mantienen su capacidad antioxidante a largo plazo a diferencia del té verde. Esta investigación nos servirá para comparar la actividad antioxidante de las especies en estudio ya que emplearemos métodos similares.

Se observa que de la revisión de los antecedentes de trabajos de investigación no hay reportes sobre el estudio químico y/o actividad biológica de las hojas de *Cinchona* en los dos géneros *Cinchona*.

II.2. Aspectos botánicos de *Cinchona officinalis* L.

II.2.1. Clasificación sistémica

Ha sido estudiada y determinada según el sistema de clasificación de Cronquist.

A. 1988, siendo su taxonomía la siguiente:

Tabla 1: Clasificación sistémica *Cinchona officinalis* L.

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	: ASTERIDAE
ORDEN	: RUBIALES
FAMILIA	: RUBIACEAE
GÉNERO	: <i>Cinchona</i>
ESPECIE	: <i>Cinchona officinalis</i> L.
N. V.	: “Quina, Cascarilla verde, quina verde, árbol de las calenturas, quinquina, quina gris”.

Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas, UNSCH 2020. (ANEXO 1)

II.2.2. Descripción botánica

La especie *Cinchona officinalis* L. perteneciente a la familia Rubiaceae, habita en las dos cordilleras de los andes, en el Perú se encuentra en los departamentos de Piura, Cajamarca, Amazonas, Lambayeque, Huánuco, Pasco, Junín; Cusco, Puno y en el Valle de los ríos Apurímac, Ene y Mantaro entre los 1000 a 3200 m s.n.m. Es un árbol de 11 hasta 15 metros de altura con aproximadamente 30 a 40 centímetros de diámetro, tiene una corteza marrón con presencia de grietas. Las hojas son simples de disposición opuesta de forma elíptica con un tamaño de 10 cm de largo, con presencia de estípulas en la unión al tallo, son caducifolias, coriáceas, de forma lanceolada y delgadas, en la base son obtusas en el ápice, con presencia de venas secundarias entre 7 a 11 pares con gran prominencia en el haz y envés de la hoja, a su vez presentan venas terciarias; glabras.^{(2), (4)}

Las flores son pequeñas, bisexuales, de simetría radial, presentes en una inflorescencia racimosas axilares, de cáliz en forma de campana, persistente, rosadas o purpuras, glabro por dentro, sin coloretos, corola hipocrateriforme, blanco-amarillenta, rosácea o púrpura, pálido en la base, tubos glabros cerca de la unión de los cinco estambres, filamentos adjuntos bajo la base del tubo de la corola tubular; Gineceo con ovario ínfero, bicarpelar, escasamente pubescente. Fruto capsular elipsoide a sub cilíndrico con endocarpo leñoso grueso, dehiscente. Semillas pequeñas aladas.^{(2), (9)}

II.2.3. Composición química y bioactividad

Quina viene a ser el nombre que recibe la corteza del quino machacada o pulverizada esta fue la primera especie descrita para el tratamiento de las fiebres palúdicas. La corteza es rica en compuestos fenólicos, ácidos orgánicos, saponinas y aceites esenciales, cuyo contenido varía según la especie. En la actualidad la *Cinchona officinalis* es utilizada en la producción de quinina y usada en la industria licorera y maderera (una pequeña cantidad se utiliza con fines farmacéuticos).⁽¹⁾

II.2.4. Usos en la medicina tradicional

Aproximadamente el 60% de la corteza de *Cinchona* es utilizada en la producción de medicamentos y el 40% restante se utiliza principalmente en la industria de alimentos y bebidas, siendo el de mayor producción las aguas tónicas (sabor amargo). La corteza seca de la quina se usa como un tónico antipalúdico y febrífugo también se usa para tratar la fertilidad y la potencia sexual. La corteza mezclada con aguardiente se usa para tratar el resfrió, gripe, la carraspera de la garganta, el susto y ataques de bilis. La decocción de la corteza se usa contra la caída del cabello. La medicina tradicional a su vez le atribuye propiedades como antiséptico, en infecciones amebianas, antidiarreico, dispepsia, lumbago, neuralgia, ciática, fiebre tifoidea y venas varicosas, preparada en infusión. En el Perú se usan las flores y hojas secas para tratar la tos, la raíz fresca se usa para tratar el cáncer.^{(2), (4)}

II.3. Aspectos botánicos de *Cinchona pubescens* Vahl.

II.3.1. Clasificación sistémica

Ha sido estudiada y determinada según el sistema de clasificación de Cronquist. A. 1988, siendo su taxonomía la siguiente

Tabla 2: Clasificación sistémica *Cinchona pubescens* Vahl.

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	: ASTERIDAE
ORDEN	: RUBIALES
FAMILIA	: RUBIACEAE
GÉNERO	: <i>Cinchona</i>
ESPECIE	: <i>Cinchona pubescens</i> Vahl.
N. V.	: “Quina, Cascarilla colorada, quina roja, árbol de quinina”

II.3.2. Descripción botánica

La especie *Cinchona pubescens* Vahl, denominada “quina”, “cascaquilla colorada” o “quina roja” originario de la cordillera de los andes, en el Perú se encuentra en los departamentos de Piura, Cajamarca, Amazonas, Lambayeque, Huánuco, Pasco, Junín; Cusco, Puno y en el Valle de los ríos Apurímac, Ene y Mantaro entre los 400 a 3200 m s.n.m., es un árbol de entre 8 hasta 12 metros de altura con alrededor de 18-28 cm de diámetro, en su mayoría tienen corteza gruesa con una superficie lisa fisurada de color plomizo gris o marrón plomizo y de sabor amargo. Las hojas presentan peciolo simple y opuesto, de textura dura y flexible, lanceoladas, de 20 cm de largo y de 5 a 20 cm de ancho, algunas son pubescentes con base aguda, ápice atenuado a su vez presentan estipulas foliosas, grande, libres y caducas.^{(1), (2), (3)}

Flores pequeñas, se presentan en forma de inflorescencia terminal, cáliz campanulado, persistentes, rosadas con cinco dientes triangulares formado por cinco sépalos totalmente connados y corola gamopétala. Gineceo con ovario ínfero y bicarpelar, pubescente. Androceo formado por un solo verticilo estaminal alternipétalo e inserto sobre la corola. Fruto capsular, de forma ovoide con dehiscencia septicida axilar, endocarpo grueso; con tres o cuatro semillas pequeñas aladas.^{(1), (3)}

II.3.3. Composición química y bioactividad

La quina o cascaquilla colorada, es el nombre que recibe la corteza del quino el cual contiene más de 20 diversos alcaloides, entre los más sobresalientes se encuentran la quinina - quinidina y cinconina – cinconidina; siendo la cloraquina, hidroxicloraquina y la quinacrina los compuestos de interés antimalárico. La corteza es rica en compuestos fenólicos contiene cinconaínas y proantocianidoles dímeros y trímeros, ácidos orgánicos (ácido quínico), saponinas, a su vez contienen taninos catéquicos, resinas y aceites esenciales (alfa-terpineol, linalol, limoneno y otros terpenos como el ácido quinóvico).^{(1), (3)}

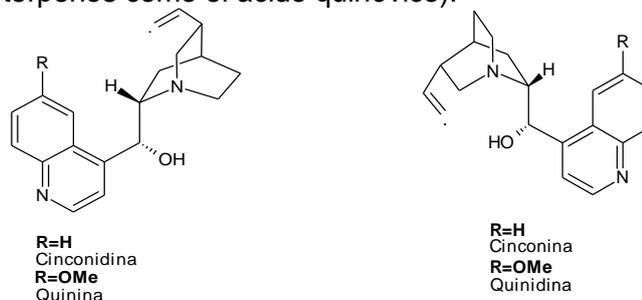


Figura 1: Estructura química de los principales alcaloides presentes en la *Cinchona*.⁽³⁾

II.3.4. Usos en la medicina tradicional

La corteza de la quina o cascarilla colorada pasa por un proceso de trituración hasta polvo para ser usada como un remedio natural. Uno de los principales alcaloides en la corteza es la quinina la cual tiene la propiedad antipalúdica es un tónico cardíaco, potenciador de la acción de los digitálicos, estimula el apetito y favorece la digestión disminuyendo así la dispepsia, otro de sus propiedades es de ser astringente favoreciendo la cicatrización y la inflamación, es usado para tratar afecciones oncológicas (cáncer de mama, glándulas, hígado, mesenterio, bazo). Se mezcla la corteza con aguardiente para tratar el resfrió, la gripe y la carraspera de la garganta. La medicina tradicional a su vez le atribuye propiedades como antiséptico, en infecciones amebianas, diarrea disentería, lumbago, neuralgia, ciática, fiebre tifoidea y venas varicosas, preparada en infusión. El uso de tintura de la corteza se usa para tratar la faringitis, estomatitis, también es usada como loción capilar en el tratamiento de la caspa, seborrea y calvicie, ya que también evita la piorrea, calmando dolores y afecciones bucales.⁽⁸⁾

⁽¹⁾ En el Ecuador el sulfato de quinina es extraído de la corteza la cual se usa en la fabricación de condones anticonceptivos.⁽²⁾

En el Perú se bebe la decocción en casos de arritmias cardíacas, fiebre, calambres musculares, resfriós e indigestión, el paludismo, reumatismo y diarreas. La corteza de éste árbol fue utilizada por los aborígenes de la región para tratar las enfermedades febriles. Los nombres quichuas chuchu-cara (corteza para el frío o escalofríos) y yurac-chucchu (árbol para el escalofrío), hace referencia a uno de sus efectos farmacológicos.⁽⁴⁾

II.4. Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son subproductos obtenidos a través de procesos metabólicos que no participan directamente en el crecimiento y desarrollo normal de los organismos. Estos compuestos son diversos productos naturales sintetizados por plantas, hongos, bacterias, algas y determinados animales. Estas moléculas juegan un papel importante en la adaptación de las plantas en el medio ambiente. La mayoría de los metabolitos secundarios (como terpenos, compuestos fenólicos y alcaloides) se clasifican según su biosíntesis. La clasificación simple de metabolitos secundarios incluye las siguientes categorías principales: compuestos fenólicos, terpenos, glucósidos y alcaloides.^{(10), (11)}

II.4.1. Compuestos fenólicos

Las plantas sintetizan una diversa variedad de subproductos los que contienen grupos fenólicos, todos derivados del fenol.⁽¹²⁾ Son compuestos orgánicos que tienden a disolverse cuando se agrega una solución acuosa o alcohólica de cloruro férrico al 1 %, se pueden detectar cuando se produce una tonalidad verde, azul o negro intenso. Los compuestos fenólicos son de suma importancia ya que tienen una fuerte capacidad antioxidante, y el mecanismo para capturar los radicales libres producidos en las células humanas resultado de la contaminación ambiental.

⁽¹³⁾

Los flavonoides forman un grupo de aproximadamente 3.000 compuestos fenólicos con estructuras químicas similares.⁽¹⁷⁾ Algunos estudios han demostrado que los metabolitos secundarios de carácter fenólicos, incluidos los flavonoides, son responsables de una variedad de actividades farmacológicas.⁽¹⁸⁾

Farmacológicamente los flavonoides se absorben rápidamente y son conocidos por su baja toxicidad, la actividad antioxidante de los flavonoides depende principalmente de su capacidad para reducir los radicales libres y quelar metales, evitando así la reacción catalítica de los radicales libres.^{(10), (19)} Por otro lado, los flavonoides desempeñan otras funciones y son farmacológicamente importantes porque tienen efectos antioxidantes, antialérgicos, antitumorales, antimicrobianos, hormonales, diuréticos, antiespasmódicos, antiulcerosos gástricos, , expectorante, antiinflamatorios y vasodilatación.^{(18), (20)}

II.5. Radical libre

Son aquellas moléculas que en su estructura poseen o no una carga, pueden tener uno o más electrones impares o desapareados, son muy activos y provienen de diversos mecanismos como son la cadena respiratoria mitocondrial, el transporte de electrones y las reacciones de oxidación produciendo así daño celular al interactuar con otras moléculas presentes en el organismo.^{(28), (29)} Los radicales más perjudiciales en sistemas biológicos son los radicales de oxígeno, en especial el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical hidroxilo ($\bullet OH$), oxígeno singlete (1O_2), oxígeno nítrico (NO).⁽²⁸⁾

Los radicales libres se forman de manera endógena como producto del metabolismo normal de cada una de nuestras células, y son inactivados por una serie de mecanismos para producir diferentes tipos de radicales libres, como especies reactivas de oxígeno (ERO), especies reactivas de nitrógeno (ERN); existen otros radiales libres que se forman de manera exógena debido a la

exposición de la contaminación ambiental, exposición a radiaciones ionizantes, rayos ultravioleta, micotoxinas, plaguicidas, solventes industriales, componentes del humo del tabaco, fármacos, alimentos, entre otros. ⁽¹⁴⁾

II.6. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo en la actualidad se define como el desequilibrio que se produce entre oxidantes y antioxidantes, se puede clasificar según la intensidad en eustrés oxidativo (poca exposición a oxidantes) y distrés oxidativo (elevada exposición a oxidantes), cuando se produce un desbalance en la producción de estas sustancias altamente activas excediendo el mecanismo antioxidante, causan toxicidad a través de la producción de peróxidos y radicales libres los cuales dañan todos los componentes de la célula y se asociado a muchas enfermedades. ^{(17), (29)}

Sin embargo, las especies reactivas de oxígeno pueden resultar beneficiosas ya que son utilizadas por el sistema inmunitario como un medio para atacar a patógenos. ⁽¹⁰⁾

II.7. Antioxidante

Un antioxidante es cualquier sustancia que tenga una baja concentración en relación con su sustrato oxidable, lo cual detiene o de cierto modo previene la oxidación del sustrato. Los antioxidantes tienen diversos mecanismos de acción; algunos previenen la formación de radicales libres y/o sustancias reactivas, otros inhiben la acción de radical libre, mientras que otros son beneficiosos para dañar la estructura biológica, reparar y reconstruir. ⁽²⁸⁾

Los antioxidantes que tengan bajo peso molecular interactúan de forma segura con los radicales libres y ponen fin a la reacción en cadena antes de que se dañen moléculas importantes. Algunos de estos antioxidantes, incluidos el glutatión, el ubiquinol y el ácido úrico, se generan durante el metabolismo normal del cuerpo mientras que otros están presentes en la dieta. ^{(10), (17)}

A su vez se encuentran moléculas antioxidantes de menor tamaño que forman parte de estos sistemas, las cuales son de origen sintéticos para que exista un sistema estándar donde se mide la actividad antioxidante para compararlos con compuestos naturales y ser agregado en los alimentos para que soporten diversos tratamientos, extendiendo su vida útil; los de origen natural y endógenos son parte de la defensa antioxidante del cuerpo humano incluyendo la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), la glutatión peroxidasa (GPx), la glutatión (GSH), entre otros. Estos componentes eliminan el exceso de especies reactivas de oxígeno

(ROS), a su vez se producen el ácido úrico, coenzima Q10 y ácido tióctico, estos actúan con la ayuda de los antioxidantes exógenos como vitamina C, vitamina E, carotenoides, flavonoides y algunos compuestos fenólicos los cuales juegan un papel importante en muchos mecanismos antioxidantes del organismo.^{(14), (19)} Y por último los cofactores son compuestos que actúan junto con los antioxidantes endógenos (cobre, zinc, manganeso, hierro, selenio).⁽¹³⁾

II.7.1. Mecanismo de acción de los antioxidantes

Interacción directa con especies reactivas: Este mecanismo hace referencia a la capacidad de muchos antioxidantes para actuar como estabilizantes o inhibidores de diversas sustancias activas, este efecto es definido como "SET" (transferencia de un solo electrón) el cual permite que los radicales libres pierdan su estado "emparejando" sus electrones no apareados y este otro mecanismo se define como "HAT" (transferencia de átomos de hidrógeno) en este caso, los radicales libres también son electrónicamente estables.⁽³⁰⁾

Prevención de la formación enzimática de especies reactivas: Algunos antioxidantes pueden actuar previniendo la formación de ROS y RNS, esto se consigue inhibiendo la expresión, síntesis o actividad de enzimas oxidativas implicadas en la producción de especies reactivas, como NADPH oxidasa (NOX), xantina oxidasa (XO), mieloperoxidasa (MPO) y síntesis de óxido nítrico. Enzima. NOS).⁽³⁰⁾

Prevención de la formación de especies reactivas dependiente de metales: Este mecanismo inhibe la formación de especies reactivas y está relacionado con contrarrestar la capacidad de ciertos metales de transición (hierro y cobre) para catalizar la formación de radicales superóxido con la reducción de radicales de oxígeno e hidroxilo, a partir del peróxido de hidrógeno (reacción de Fenton).⁽³⁰⁾ Las proteínas que se unen a estos metales son consideradas como antioxidantes primarios porque previenen que estos metales participen en la formación de radicales libres. Así por ejemplo el hierro se une a proteínas tales como la transferrina, lactoferrina o ferritina y el cobre se une a la albúmina o ceruloplasmina.⁽³¹⁾

Activación o inducción de la actividad de enzimas antioxidantes: El cuerpo humano sintetiza ciertas enzimas cuya función es eliminar sustancias activas, como parte de la defensa antioxidante principalmente ROS. Hay evidencia de que algunos compuestos en la dieta humana pueden inducir la expresión de genes que codifican la síntesis de ciertas enzimas antioxidantes. Algunos ejemplos de

II.8.2. ABTS (Radical catiónico 2,2' - azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diamonium salt 98%)

Esta técnica se basa en la reacción de transferencia de electrones (ET) y la reacción de transferencia de átomos de hidrogeno (HAT). Es un radical libre cromóforo azul que se puede producir química o enzimáticamente mediante la oxidación del ácido 2,2'-azido-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS)). Los radicales libres son fácilmente solubles en agua y otros solventes orgánicos. A su vez reaccionan con la mayor parte de los antioxidantes sintéticos y naturales, incluidos fenoles, aminoácidos, péptidos, tioles, indoles, flavonoides, carotenoides, tocoferoles y vitamina C, etc.⁽¹⁷⁾

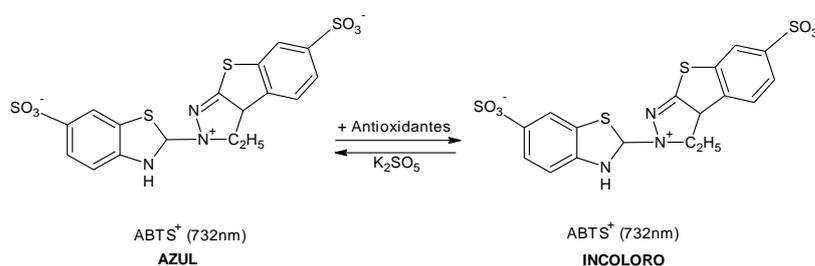


Figura 3: Reacción del ABTS con el antioxidante.⁽¹⁴⁾

II.9. Virus

Los virus son partículas de material genético sumamente infecciosas de tamaño pequeño (de 20 y 300nm), su replicación se da al interior de una célula viva para hacer más copias de sí mismo, pudiendo infectar bacterias, hongos, parásitos, plantas animales incluido al hombre.^{(35), (36)} Se caracterizan por tener la incapacidad de reproducirse en medios biológicos inertes.^{(37), (38)}

Los bacteriófagos son virus que contaminan únicamente bacterias, este huésped debe ser viable para que el fago replique su material genético en su interior.⁽⁴⁰⁾

Los organismos humanos y animales están acostumbrados al contacto con bacteriófagos porque a menudo se consumen en los alimentos, por lo que son colonizadores habituales del intestino humano y pueden aislarse de las heces y de aguas residuales.⁽⁷⁾

La etapa de infección bacteriana es la etapa de adsorción del virus y la consecuente penetración o entrada en la célula; la multiplicación al interior del huésped o disolución o lisis con la liberación continua del virus, la actividad de lisis se puede observar mediante la clarificación del cultivo o la formación de calvas o placas en los medios de cultivo, y pueden ser contados expresándolos como unidad formadora de placa de lisis UFP/100ml.⁽⁷⁾

Existen dos mecanismos de replicación fágica: el ciclo lítico que tiene como finalidad la proliferación viral; y el ciclo lisogénico, que es considerado un modo de infección latente de baja frecuencia que no causa daño a la célula hospedera.⁽³⁹⁾

II.9.1. Ensayo celular para evaluar la actividad antiviral

Los fagos son considerados “la forma de vida más abundante y ubicua en la tierra”, por lo que pueden ser aislados de diversos entornos, tales como, aguas residuales, el suelo, los alimentos, el esputo, la saliva y el sistema gastrointestinal. Por las propiedades que tienen los bacteriófagos representan un modelo sencillo, rápido, barato, sensible, altamente específico y comparable con modelos de virus patógenos para el humano, por lo cual resulta una opción para determinar la capacidad antiviral.⁽³²⁾

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. Ubicación

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

III.2. Población y muestra

III.2.1. Población

Hojas de las dos especies del género *Cinchona*, *Cinchona officinalis* L. y *Cinchona pubescens* Vahl que crecen en la comunidad de San Cristóbal, distrito de Samugari, provincia de La Mar, Departamento de Ayacucho a 1500 msnm.

Cepa de bacterias *E. coli* ATCC 13706 y bacteriófago procedente de las aguas residuales de la planta de tratamiento Totorilla.

III.2.2. Criterios de inclusión y exclusión

Se tomó en consideración las hojas de las dos plantas del género *Cinchona* que estén limpias, secas y en buen estado de conservación sin rastros de epidemia microbiana, cepas de *E. coli* ATCC 13706 y bacteriófago libres de contaminación excluyendo a las hojas de las dos especies del género *Cinchona* que estén húmedas y en mal estado, cepas y bacteriófagos no conocidos.

III.2.3. Muestra

Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cinchona officinalis* L. 345 g y de las hojas de *Cinchona pubescens* Vahl 345 g

Suspensión microbiana de *E. coli* ATCC 13706 [10^8 Bac/mL] y viral UFP (unidad formadora de placa de lisis por mL)

III.2.4. Unidad de análisis

Extracto hidroalcohólico de las hojas de las dos especies del género *Cinchona*.

III.2.5. Sistema de muestreo

Libre por conveniencia.

III.3. Métodos instrumentales para la recolección de datos

III.3.1. Recolección y preparación de la muestra

Se recolectaron al azar las hojas de las dos plantas del género *Cinchona* en horas de la mañana, estas fueron lavadas con agua limpia y secadas a temperatura ambiente en un lugar con buena ventilación, cambiando el papel de soporte y removiendo los frutos para evitar su descomposición, por un periodo de 14 días. Luego se seleccionaron las hojas más adecuadas para proceder con la molienda.

III.3.2. Obtención del extracto atomizado de las hojas de las dos especies del género *Cinchona*

Se seleccionaron las hojas de las dos plantas del género *Cinchona*, tomando en consideración el buen estado de las hojas.

Se pesó una cantidad de 345 g de *Cinchona officinalis* L. y *Cinchona pubescens* Vahl, las cuales se sometieron a maceración en 200 mL de una solución hidroalcohólica al 50% la cual se agitó vigorosamente durante 10 minutos, se homogenizó y dejó reposar durante siete días en total oscuridad. Transcurrido este tiempo se homogenizó y se filtró al vacío, el sobrenadante se concentró en un Rotavapor (BUCHI R-3000).⁽⁴⁹⁾

Finalmente se atomizó para obtener un polvo fino utilizando el atomizador (BUCHI Mini Spray Dryer B-290), el producto obtenido se envasó en un frasco ámbar herméticamente cerrado para prevenir la captación de agua. Obteniendo así un total de 36,71 g de *Cinchona officinalis* L. y 24,35 g de *Cinchona pubescens* Vahl de muestra sólida (polvo fino). (Ver anexo 6)

III.4. Identificación fitoquímica

El extracto hidroalcohólico que se obtuvo de las dos especies del género *Cinchona* se utilizó para realizar las reacciones de coloración y precipitación para identificar los metabolitos secundarios, siguiendo los procedimientos propuestos por Lock y Miranda ^{(42), (43)} (Ver anexo 7)

a) Identificación de alcaloides⁽⁴²⁾

- **Reacción con Dragendorff:** A una solución del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* se le añadió dos gotas de HCl 1% y dos gotas de reactivo de Dragendorff, la formación de un precipitado rojo a naranja es positivo.
- **Reacción con Mayer:** A una solución del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* se le añadió dos gotas de HCl 1% y dos gotas de reactivo de Mayer, la formación de precipitado blanco a crema es positivo.
- **Reacción con Hager:** A una solución del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* se le añadió dos gotas de HCl 1% y dos gotas de reactivo Hager, la formación de cristales indica que es positivo.
- **Reacción con Wagner:** A una solución del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* se le añadió dos gotas de HCl 1% y una gota de reactivo de Wagner, la formación de precipitado color marrón es positivo.

b) Identificación de flavonoides⁽⁴²⁾

- **Reacción de Shinoda:** A una solución del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* se le añadió tres trozos de magnesio metálico y dos gotas de HCl 1%, el cambio de coloración de rojo a amarillo, rojo a magenta, roja magenta a violeta azul indica la presencia de flavonoides.
- **Reacción con Cloruro férrico 1%:** A una solución del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* se le añadió dos gotas de solución de FeCl₃ al 1 %, un cambio de coloración a verde indica la presencia de derivados del catecol y azul indica la presencia de derivados del pirogalol.
- **Reacción ácida:** A una solución del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* se le añadió una gota de H₂SO₄ q.p., un cambio de coloración a amarillo oscuro indica la presencia de flavonas y flavonoles, anaranjado o guinda indica la presencia de flavononas, rojo guinda a rojo azulado indica la presencia de chalconas y auronas.
- **Reacción de Bornträger:** A una solución del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* se le añadió una gota de NaOH al 5%, un cambio de coloración a amarillo indica la presencia de flavonas, flavonoles e isoflavonas; amarillo a naranja indica la presencia de flavonas y flavonoles; naranja a rojizo indica la presencia de chalconas.

- **Reacción de la gelatina + NaCl:** A una solución del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* se le añadió una gota de reactivo (1g de gelatina en 100mL agua + 10g de cloruro de sodio), una formación de precipitado nos indica la presencia de taninos.⁽⁴²⁾

c) Identificación de saponinas⁽⁴²⁾

- **Método de la espuma:** Se tomó 0,1 mg de los extractos atomizados de las hojas de dos géneros de *Cinchona* más 9 mL de H₂O destilada, colocándolo en un tubo de ensayo (13 x 100 mm). Se agitó vigorosamente durante 30 segundos, preferentemente con la mano. Se dejó reposar 2 min. Si la altura de espuma es 15 mm (+++), se le atribuye un alto contenido de saponinas.

d) Identificación de lactonas⁽⁴²⁾

- **Reacción con Baljet:** A una solución del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* se le añadió una gota de reactivo Baljet, un cambio de coloración de rojo claro a oscuro indica la presencia de α y β lactonas insaturadas.

e) Identificación de terpenos⁽⁴³⁾

- **Reacción de Lieberman - Burchard:** A una solución del extracto de las hojas de dos especies del género *Cinchona* se le añadió 1 mL de cloroformo, se añadió 1mL de anhídrido acético homogenizando bien, por la pared del tubo de ensayo se dejó resbalar de 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar, un cambio de coloración inicial de azul o azul verdoso y una segunda coloración de rojo, rosado o púrpura nos indican la presencia de esteroides y/o triterpenos.
- **Reacción de Kedde:** A una solución del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* se le añadió 1ml de reactivo Kedde, dejar reposar durante 5 a 10 minutos, es positivo cuando se da un cambio de coloración a púrpura o violácea que persiste durante 1 a 2 horas indica la presencia de glicósidos cardiotónicos.

III.5. Determinación del contenido de fenoles totales

El contenido de fenoles totales en productos vegetales se realiza por espectrofotometría, basándose en la reacción colorimétrica de óxido reducción. Esta reacción se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin Ciocalteu, dando una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm.

El reactivo de Folin Ciocalteu es una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico (color amarillo) pero al ser reducido por los grupos fenólicos de la muestra dan lugar a un complejo azul intenso, cuya intensidad se mide para evaluar el contenido en fenoles.^{(44), (45)}

Procedimiento

Se preparó una curva de calibración utilizando ácido gálico como patrón para la cuantificación en un rango de concentración 10 – 60 µg/mL. Se tomaron 100 µL de las muestras convenientemente diluidas, 500 µL del reactivo Folin Ciocalteu (1:10), 400 µL de una solución de carbonato de sodio al 7,5%. Se mezclaron en un tubo de ensayo y se dejaron reaccionar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 765 nm utilizando un espectrofotómetro (GENESYS 10S UV - VIS). Se preparó la muestra pesando 100mg del extracto atomizado de las dos especies del género *Cinchona* y se enrazó a 10 mL con etanol 50°, de esta solución se tomó 2 mL y se enrazó a 25 mL con etanol 50° y por último se tomó 2 mL y se enrazó a 5 mL con etanol 50° tomando de esta última 100 µL, seguido de esto se añadió 500 µL del reactivo Folin Ciocalteu (1:10) y 400 µL de una solución de carbonato de sodio al 7,5% para realizar la lectura en un espectrofotómetro a 765 nm las cuales se realizaron por triplicado. El contenido de fenoles totales se expresa en miligramos equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de extracto seco. (Ver anexo 8)

III.6. Determinación del contenido de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales es un método que se basa en la reacción de los grupos OH- de los flavonoides y el aluminio (Al^{+3}) formando un complejo que es medido en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 415 nm.^{(44), (46)}

Procedimiento

Se preparó una solución patrón de 1mg/mL de ácido de rutina en metanol. La concentración de ácido de rutina de la solución estándar de trabajo fue de 40 µg/mL. Se pipetearon alícuotas de 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 y 4,0 mL de la solución stock de ácido de rutina en la serie de tubos de prueba marcados con S1, S2, S3, S4, S5, S6 y S7 respectivamente. Seguidamente se toma 500 µL de cloruro de aluminio al 2% ($AlCl_3$) mas 5,0 ml de metanol 50° csp. Para el blanco se usó un tubo de ensayo marcado con "B" con 500 µL de cloruro de aluminio al 2% ($AlCl_3$) mas 5,0 mL de metanol 50° csp.

Se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 415 nm utilizando un espectrofotómetro (GENESYS 10S UV - VIS). Se preparó la muestra pesando 100mg del extracto atomizado de las dos especies del género *Cinchona* y se enrazó a 10 mL con etanol de 50°, de esta solución se tomaron 2 mL y se enrazó a 25 mL con etanol de 50° tomando de esta última 2,0 mL añadiendo 0,5 mL de cloruro de aluminio al 2% (AlCl₃) y 2,5 mL de metanol de 50° para realizar la lectura en un espectrofotómetro a 415 nm las cuales se realizaron por triplicado. El contenido de fenoles totales se expresa en miligramos equivalentes de ácido de rutina por gramo extracto seco. (Ver anexo 8)

III.7. Determinación de la actividad antioxidante y actividad antiviral

III.7.1. Ensayo de captación del radical 2,2-difenil-1-picril hidracilo (DPPH)

Se realizó la evaluación cuantitativa de la actividad antioxidante siguiendo la metodología descrito por Sousa et al., (2007), con algunas modificaciones.⁽⁴⁵⁾

El ensayo de captación del radical DPPH se fundamenta en la decoloración de éste radical por la presencia de los antioxidantes. El radical DPPH se caracteriza por ser un compuesto sólido de color púrpura y presenta un electrón libre o desapareado, este radical libre se estabiliza frente la presencia de un agente antioxidante decolorándose hasta quedar de color amarillo pálido a cristalino, esta disminución de color es directamente proporcional a la capacidad antioxidante la cual se mide a una longitud de onda de 517 nm.

Procedimiento

Se preparó una solución stock de DPPH de 40 µg/mL de concentración en etanol de 96°, a partir de esta solución se preparó una curva de calibración de DPPH en un rango de concentraciones de 1 a 35 µg/mL dejando en reposo durante 30 min y leyendo las absorbancias a 515 nm previo calibrado con el blanco. Posteriormente se preparó una curva de calibración utilizando Trolox a una concentración de 500 µg/mL en etanol de 96° el cual es utilizado como patrón de cuantificación en un rango de concentraciones de 25 a 250 µg/mL, se procedió a adicionar en un tubo de ensayo 2,7 mL de la disolución de DPPH y se adicionó 0.3 mL de solución patrón Trolox. Una vez terminado la mezcla se homogenizó y se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente y protegido de la luz. Finalmente, se procedió a medir las absorbancias de las muestras a 515 nm en un espectrofotómetro (GENESYS 10S UV - VIS). Esta medición se realizó contra un blanco el cual fue solo etanol. También, se preparó un control con 2,7 mL de la disolución de DPPH y 0,3 mL de etanol.

Para realizar el análisis de las muestras, se procedió a reconstituir cada uno de los extractos con etanol de 50° csp obteniendo una concentración de 500 µg/mL. Luego, se preparó una batería de concentraciones de 25, 50, 100, 150, 200 y 250 µg/mL con alcohol de 96° csp. Posteriormente, cada concentración fue sometida al mismo tratamiento que los compuestos de referencia. Los ensayos fueron realizados por triplicado. (Ver anexo 9).

Cálculo del porcentaje de actividad antioxidante

La evaluación de la capacidad antioxidante se expresó como porcentaje y se determinó de acuerdo a la siguiente formula:

$$\%AA = 100 - \left[\frac{A_m - A_b}{A_c} \times 100 \right]$$

%AA = porcentaje de actividad antioxidante

Am = absorbancia de las muestras

Ab = absorbancia del blanco de las muestras

Ac = absorbancia del control

III.7.2. Ensayo de captación del radical 2,2 - azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio) (ABTS)

El ensayo de captación del radical ABTS se fundamenta en la decoloración de este radical por la presencia de los antioxidantes. El radical catiónico ABTS se caracteriza por ser un compuesto sólido de color turquesa intenso el cual presenta un radical libre o desapareado, este radical libre se estabiliza frente la presencia de un agente antioxidante decolorándose hasta quedar de un color amarillo pálido a cristalino, esta disminución de color es directamente proporcional a la capacidad antioxidante la cual se mide a una longitud de onda de 734 nm.⁽¹⁷⁾

Procedimiento

Se preparó una solución stock de ABTS a 7 mM de concentración en agua destilada csp, de esta solución se tomaron 3 ml y se añadieron 3 ml de una solución de persulfato de potasio (K₂S₂O₈) 2,45 mM para dejar reposar por 16 horas a temperatura ambiente y protegido de la luz, pasado este tiempo se añadió etanol de 96° csp para llevarlo a una absorbancia de 0,70 ± 0,20 nm a una longitud de onda de 734 nm.

Posteriormente se realizó una curva de calibración utilizando Trolox como patrón de cuantificación a una concentración de 500 µg/mL en etanol 96° csp de este se realizaron concentraciones de 25 a 250 µg/m, se procedió a adicionar en un tubo de ensayo 980 µL de la solución stock de ABTS y 20 µL de la solución patrón de

Trolox., una vez terminado se homogenizaron los tubos con la solución dejándolos reposar durante 7 minutos a temperatura ambiente y protegidos de la luz para finalmente realizar la lectura de las absorbancias a 734 nm en calibrando el espectrómetro con el blanco general y para cada solución.

Para realizar el análisis de las muestras, se reconstituyeron cada uno de los extractos con etanol de 50° a una concentración de 500 µg/mL. Luego, se preparó una batería de concentraciones de 25, 50, 100, 150, 200 y 250 µg/mL. Posteriormente, cada concentración fue sometida al mismo tratamiento y condiciones que los compuestos de referencia. Los ensayos fueron realizados por triplicado. (Ver anexo 10).

Cálculo del porcentaje de actividad antioxidante

La evaluación de la capacidad antioxidante se expresó como porcentaje y se determinó de acuerdo a la siguiente formula:

$$\%AA = 100 - \left[\frac{A_m - A_b}{A_c} \times 100 \right]$$

%AA = porcentaje de actividad antioxidante

Am = absorbancia de las muestras

Ab = absorbancia del blanco de las muestras

Ac = absorbancia del control

III.7.3. Ensayo de la actividad antiviral

Para la evaluación de la actividad antiviral del extracto hidroalcohólico de las dos variedades de Quina se emplearon bacteriófagos ya que por sus propiedades representan un modelos sencillo, rápido, económico, sensible, altamente específico y comparable con otros modelos de virus patógeno para el ser humano, por lo cual resulta una opción para determinar la capacidad antiviral.⁽³²⁾

Procedimiento

Se realizó el aislamiento del virus (bacteriófago) los cuales se filtraron y se distribuyeron en viales estériles en una cantidad de 1mL por vial los cuales se guardaron en refrigeración. A su vez se realizó la siembra de la cepa receptora de *E. coli* ATCC 13706, en caldo nutritivo y se incubó a 35°C durante 24h hasta obtener una concentración de 10⁸ Bac/mL equivalente al estándar 0.5 de McFarland.

Posteriormente en un matraz se añadieron 1 mL de la cepa de *E. coli* ATCC 13706, y 0,1 mL del agua residual, se agitaron haciendo movimientos ondulatorios y se agregaron agar nutritivo a 45°C para ser vertidos en placas de Petri, se dejaron en reposo hasta solidificación e incubaron a 37°C durante 24 horas. Se contaron las placas de lisis formadas y se reportarán como UFP/mL (Unidades formadoras de placa de lisis por mL).^{(7), (47)}

Para realizar el análisis de las muestras, se reconstituyeron cada uno de los extractos con agua destilada previamente esterilizada y se llevó a concentraciones de 2,5; 1,25 0,63; 0,32; 0,16 y 0,08 mg/mL, en diferentes tubos en una cantidad de 0.8 mL por cada tubo y se adicionaron 0.2 mL del filtrado del virus, seguido se realizó el mismo tratamiento reemplazando el extracto por agua destilada para usarlo como control. Se controlaron tiempos de reacción en todos los tubos de 10, 20, 40 y 80 minutos a temperatura ambiente, una vez transcurridos los tiempos se realizaron diluciones de 1 en 1 tomando 1 mL de la mezcla del extracto y 1 mL de agua destilada para luego ser inoculadas con 0,2 mL de cada tubo que contenía el cultivo joven de *E. coli* ATCC 13706, la solución se homogenizó haciendo movimientos ondulatorios y se agregó el agar nutritivo a 45°C para luego ser vertidas en placas Petri. Finalmente se incubaron a 37°C durante 24 horas y se observó la formación de Unidades Formadoras de Placa de lisis por mL (UFP/mL). El recuento de calvas se llevó a cabo en placas expuestas con ayuda del cuenta colonias y se determinó la concentración media inhibitoria (CMI₅₀).^{(47), (48)}

Cálculos de la actividad antiviral

La evaluación de la capacidad antiviral se expresó como Unidad Formadora de Placa y se determinó de acuerdo a la siguiente formula:

$$UPF = \frac{X(N^{\circ}placas)(10^{-10})}{0.1 ml}$$

III.8. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de la evaluación de los estudios fueron procesados por la base de datos Microsoft Excel, SPSS21 y OriginPro. Los resultados se expresan como promedio, la diferencia significativa existente entre los tratamientos fue evaluada a través del análisis de varianza (ANOVA), seguido de la prueba de t-Student, con un nivel de significancia estadística de 0,05 y prueba de Duncan para las comparaciones múltiples.

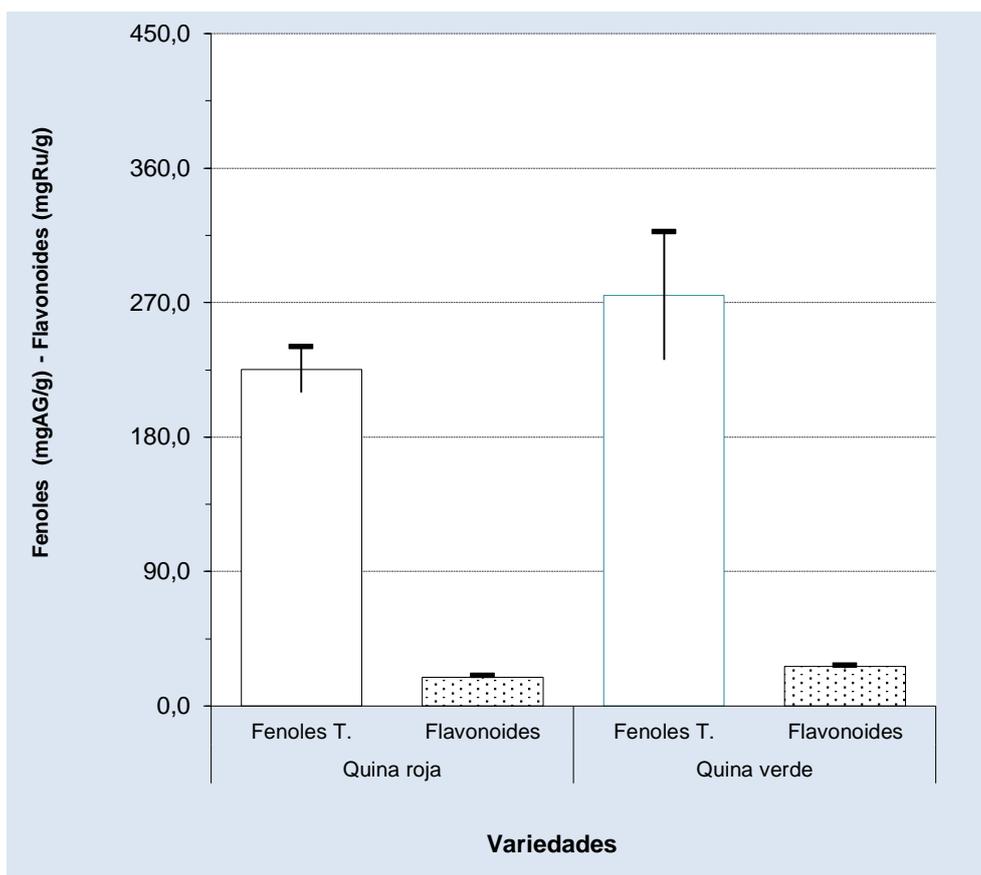
IV. RESULTADOS

Tabla 3: Identificación de metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* “quina”, Ayacucho 2021.

Metabolito secundario	Ensayo	Especies		Observaciones
		<i>Cinchona officinalis</i> L.	<i>Cinchona pubescens</i> Vahl.	
Alcaloides	Dragendorff	+	+	Leve precipitado rojo ladrillo
	Mayer	-	-	Precipitado blanco o crema
	Hager	+	+	Formación de cristales
	Wagner	+	+	Leve precipitado marrón
Flavonoides	Shinoda	+	+	Coloración amarillo-rojo: Flavonas y flavonoles
	Cloruro férrico	+++	+++	Coloración verde-negro: Derivados del catecol
	Rx. Bornträger	++	++	Coloración naranja: Flavononas y flavonoles
	Rx. Ácida	++	++	Coloración amarillo oscuro: Flavonas, flavonoles y flavononas
	Rx. Gelatina-NaCl	+++	+++	Formación de precipitado: Taninos
Saponinas	Espuma	+++	+++	Formación de espuma
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	+++	+++	Coloración roja: α y β lactonas insaturadas
Terpenos	Rx. Lieberman - Burchard	+++	+++	Coloración rojo púrpura: Triterpenos
	Rx. Kedde	+++	+++	Coloración violeta: Glicósidos cardiotónicos

LEYENDA:

- (-) : Ausencia
- (+) : Trazas
- (++) : Positivo
- (+++): Abundante



Tratamiento	Fenoles totales (mg GAE/g)	Flavonoides totales (mg RUE/g)
<i>Quina roja</i>	225,3 ± 15,5 ^a	19,4 ± 0,88 ^a
<i>Quina verde</i>	274,7 ± 44,9 ^b	26,3 ± 1,13 ^b

Figura 4: Contenido de fenoles totales y flavonoides totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* “quina”, Ayacucho 2021.

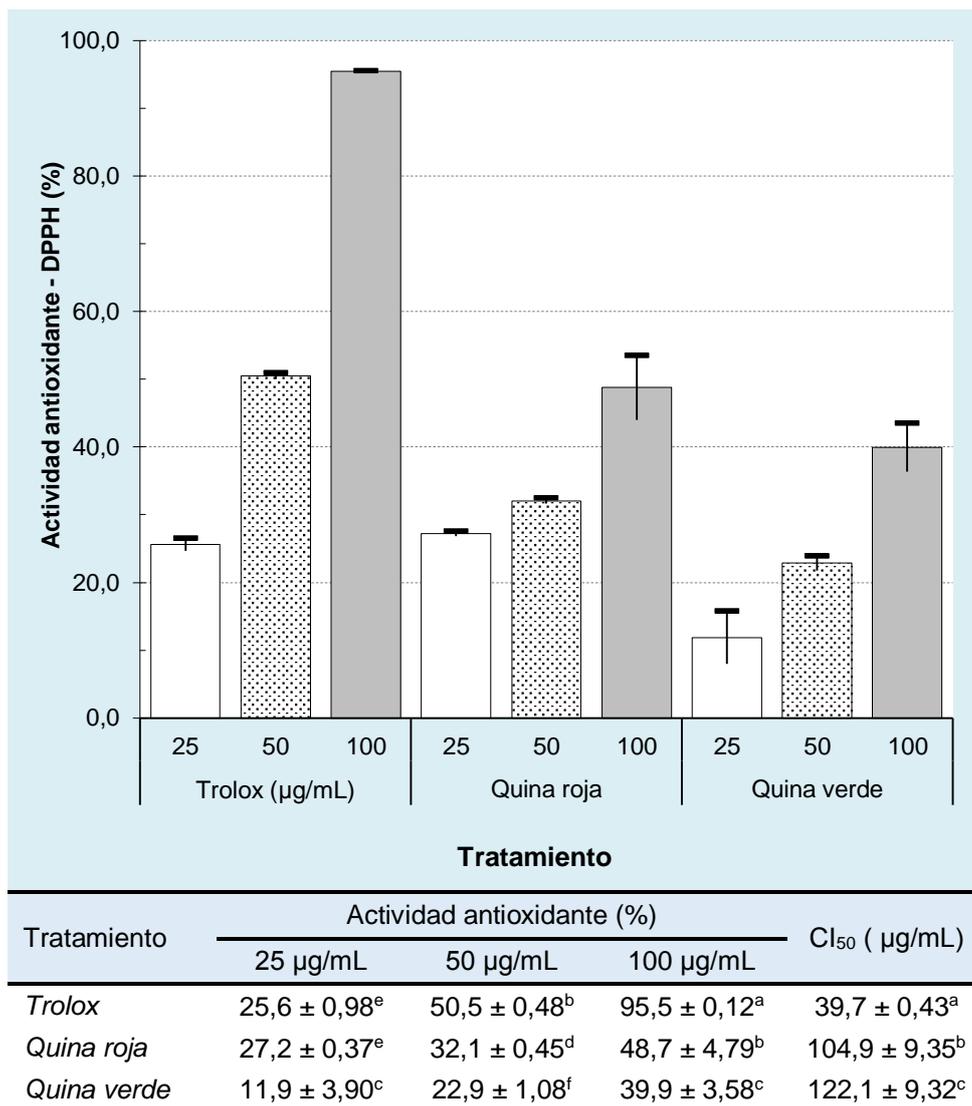


Figura 5: Actividad antioxidante por el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* “quina”, Ayacucho 2021.

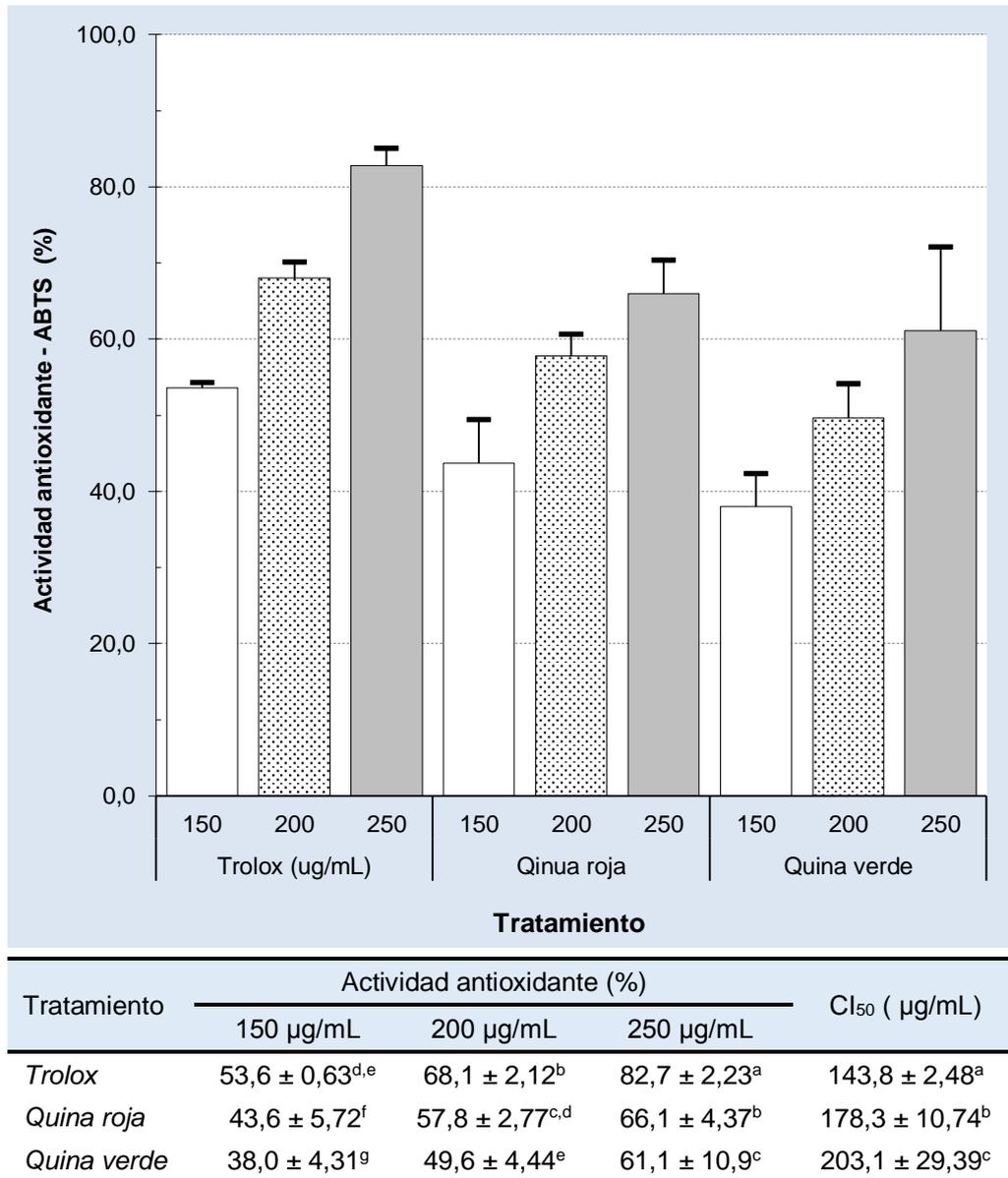


Figura 6: Actividad antioxidante por el método ABTS del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* “quina”, Ayacucho 2021.

Tabla 4: Actividad antiviral, Unidades formadoras de placas por efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de *Cinchona officinalis* L. “cascarilla verde”, Ayacucho 2021.

Tiempo (min)	Concentración (mg/mL)							p-valor
	0,0	0,08	0,16	0,32	0,63	1,25	2,5	
10	180,0 ± 0,0 ^a	36,3 ± 4,3 ^b	22,5 ± 6,5 ^c	11,3 ± 2,4 ^d	2,5 ± 1,4 ^e	1,3 ± 1,3 ^e	0,0 ± 0,0 ^e	1,8 x 10 ⁻⁸
20	180,0 ± 0,0 ^a	35,0 ± 2,1 ^b	18,8 ± 1,3 ^c	8,8 ± 1,3 ^d	3,8 ± 1,3 ^e	0,0 ± 0,0 ^e	0,0 ± 0,0 ^e	3,9 x 10 ⁻³⁰
40	180,0 ± 0,0 ^a	40,0 ± 2,0 ^b	5,0 ± 0,0 ^c	3,8 ± 1,3 ^c	0,0 ± 0,0 ^d	0,0 ± 0,0 ^d	0,0 ± 0,0 ^d	2,3 x 10 ⁻³²
80	180,0 ± 0,0 ^a	27,5 ± 3,2 ^b	8,8 ± 2,4 ^c	0,0 ± 0,0 ^d	0,0 ± 0,0 ^d	0,0 ± 0,0 ^d	0,0 ± 0,0 ^d	1,3 x 10 ⁻²⁷
p-valor	1,00	0,74	2,1 x 10 ⁻⁴	1,0 x 10 ⁻³	3,8 x 10 ⁻²	0,43	1,00	

Tabla 5: Actividad antiviral, Unidades formadoras de placas por efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de *Cinchona pubescens* Vahl. “cascarilla colorada”, Ayacucho 2021.

Tiempo (min)	Concentración (mg/mL)							p-valor
	0,0	0,08	0,16	0,32	0,63	1,25	2,5	
10	180,0 ± 0,0 ^a	31,3 ± 2,4 ^b	35,0 ± 3,5 ^b	6,3 ± 1,3 ^c	3,8 ± 1,3 ^{c,d}	3,8 ± 1,3 ^{c,d}	0,0 ± 0,0 ^d	8,9 × 10 ⁻²⁶
20	180,0 ± 0,0 ^a	38,8 ± 1,3 ^b	18,8 ± 3,8 ^c	16,3 ± 2,4 ^c	7,5 ± 2,5 ^d	6,3 ± 2,4 ^{d,e}	0,0 ± 0,0 ^e	5,9 × 10 ⁻²⁴
40	180,0 ± 0,0 ^a	45,0 ± 3,5 ^b	25,0 ± 2,0 ^c	31,3 ± 3,8 ^d	0,0 ± 0,0 ^e	0,0 ± 0,0 ^e	0,0 ± 0,0 ^e	2,2 × 10 ⁻²⁴
80	180,0 ± 0,0 ^a	37,5 ± 3,2 ^b	23,8 ± 1,3 ^c	8,8 ± 1,3 ^d	0,0 ± 0,0 ^e	0,0 ± 0,0 ^e	0,0 ± 0,0 ^e	2,9 × 10 ⁻²⁸
p-valor	1,00	0,03	0,011	3,5 × 10 ⁻⁵	0,016	0,016	1,00	

V. DISCUSIÓN

Ochoa y Sarmiento ⁽⁴³⁾ en su estudio realizado nos mencionan que hay metabolitos secundarios que se clasifican según la estructura, por el origen o por la actividad biológica que poseen, distribuyéndose en plantas de las familias como Rutaceae, Solanaceae, Rubiaceae, entre otros. A estas familias de plantas se les atribuyeron diversas funciones biológicas entre ellas como agente antibacterianos, antifúngica, antioxidantes y antivirales, etc.

Al realizar el presente estudio se evidenció la presencia de una diversidad de metabolitos secundarios los cuales le confieren la capacidad antioxidante y antiviral como se reportan en estudios mencionados anteriormente; estos compuestos fenólicos presentes en el extracto de las dos especies del genero *Cinchona* (*Cinchona officinalis* L. y *Cinchona pubescens* Vahl) van a actuar como interruptores de los radicales libres, produciendo de esta manera un efecto antioxidante a su vez van a impedir la replicación de los virus inhibiendo la formación de calvas o UFP.

En la tabla 3, se muestran los resultados de la identificación fitoquímica para los extractos de *Cinchona officinalis* L. y *Cinchona pubescens* Vahl, donde se comprobó la presencia de alcaloides (+), flavonoides (flavonas++, flavonoles++, derivados del catecol++, flavononas++, flavononoles++ y taninos+++), saponinas (+++), lactonas o cumarinas (+++) y terpenos (Triterpenos+++ y glicósidos cardiotónicos+++). Diversas investigaciones hacen mención a estos compuestos donde se les atribuye la actividad antioxidante y antiviral.

Si bien no existen estudios realizados en las hojas del *Género Cinchona*, hay estudios realizados en la corteza y estos se relacionan con los estudios realizado por Sánchez ⁽⁴⁾, con el tamizaje fitoquímico realizado al extracto metanólico de la corteza de *Cinchona officinalis* L donde reportó la presencia de alcaloides (+++), saponinas (+++), taninos (+), flavonoides (+++) y, esteroides y/o triterpenos (+++), compuestos fenólicos (+++).

Por otro lado en el estudio de Cifuentes ⁽³⁾, con el tamizaje fitoquímico realizado al extracto de la corteza de *Cinchona pubescens Vahl* reportó la presencia de alcaloides (+++ quinina, cinconidina, quinidina y cinconina), triterpenos y/o esteroides (+), quinonas (+), catequinas (+), saponinas (+), taninos (+) y flavonoides (+++ kaempferol, quercetina y apigenina). Así mismo en el estudio de Cuyubamba ⁽⁵⁾, con el tamizaje fitoquímico realizado a los tallos de *Cinchona pubescens Vahl* donde demostró la presencia de alcaloides (+++), aminogrupos primarios y/o secundarios (+), grupos fenólicos libres (+), taninos (++) , triterpenos y esteroides (+), quinonas antraquinonas (+), catequinas (+), flavonoides (+) y saponinas (+). Finalmente en el estudio que realizo Barukcic y Sola ⁽¹⁾, en el tamizaje fitoquímico de la corteza de *Cinchona pubescens Vahl* se reportó la presencia de alcaloides (+++), aminogrupos primario y/o secundarios (+), grupos fenólicos libres (+), taninos (++) , triterpenos y esteroides (+), quinonas antraquinonas (+), catequinas (+), flavonoides (+) y saponinas (+).

Después de realizar la cuantificación se puede observar el contenido de fenoles totales en ambas especies del genero *Cinchona*. García, Fernández y Fuentes ⁽⁴⁹⁾ en su estudio determinan los polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu el cual mide el contenido de compuestos fenólicos al reaccionar el ácido fosfomolibdotungstico con los compuestos fenólicos pasando de un tono amarillo a un tono azul intenso la cual se mide por el espectrofotómetro a 765nm, cuya coloración favorece a la cuantificación de los polifenoles. De esta manera se procedió a la cuantificación de los fenoles totales como se aprecia en la figura 4, donde se muestran los valores de fenoles totales en miligramos equivalentes a ácido gálico por gramo de extracto (mg GAE/g) del extracto de hojas del género *Cinchona* “quina” en las especies *Cinchona officinalis* L. y *Cinchona pubescens* Vahl realizado por el método espectrofotométrico de Folin Ciocalteu. El extracto de la especie verde presenta mayor contenido de fenoles totales ($274,7 \pm 44,9$ mgGAE/g) respecto a la especie roja ($225,3 \pm 15,5$ mgGAE/g). Amaya y Portillo ⁽⁵⁰⁾ en su estudio nos menciona que la cuantificación de flavonoides se realiza según el método colorimétrico de tricloruro de aluminio, las cuales muestran un color amarillo en contacto con las muestras, esto se debe a que el catión de aluminio que forma complejos estables con el flavonoide en medio etanólico evitando la interferencia de otras sustancias fenólicas, es así que se procedió a la cuantificación de flavonoides en miligramos equivalentes a rutina por gramo de extracto (mgRUE/g) del extracto de hojas del género *Cinchona* “quina” como se

aprecia en la figura 4 en las especies *Cinchona officinalis* L y *Cinchona pubescens* Vahl realizado por el método de tricloruro de aluminio. El extracto de la especie verde presenta mayor contenido de flavonoides ($26,3 \pm 1,13$ mgRUE/g) con respecto a la variedad roja que presenta ($19,3 \pm 0,88$ mgRUE/g), el análisis estadístico demuestra que hay diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) tanto en el contenido de fenoles como de flavonoides totales de las dos especie del género *Cinchona*. (Ver Anexo 16 y 17). Por otro lado Barukcic y Sola⁽⁸⁾ en su estudio determinaron la cantidad de fenoles y flavonoides totales de *Cinchona pubescens* Vahl, obteniendo $30,08$ mg/g y 2 mg/g respectivamente, estos valores son bajos comparados con los obtenidos en esta investigación el cual se puede deber a que el estudio que realizaron se hizo en corteza y al tipo de extracción al que fue sometido. Finalmente Ravishankara y Harish⁽⁶⁾ en su estudio de la actividad antioxidante realizado a los extractos acuoso y etanólico de *Cinchona officinalis* L se observa que tuvieron como resultado del contenido de fenoles totales para el ME (extracto metanólico) y WE (extracto acuoso) un $21,37\%$ y $5,18\%$ p/p respectivamente, con respecto a la corteza en polvo.

En esta investigación también se determinó la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cinchona officinalis* L. y *Cinchona pubescens* Vahl, a través de dos métodos colorimétricos *in-vitro* con las especies radicalarias de origen sintéticos DPPH y ABTS, ya que estos son los más utilizados en los laboratorios del mundo debido a que indican de manera general, la capacidad antioxidante de las sustancias para donar hidrógenos o captar electrones. Por su parte Sousa et al⁽⁴⁵⁾ en su estudio nos menciona que uno de los métodos más usados para la determinación de la actividad antioxidante, consiste en evaluar la capacidad de depuración del radical libre 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo – DPPH (color azul violeta), por la acción de un antioxidante donde este se reduce formando un compuesto llamado difenil-picrilhidrazina (color amarillo) el cual indica la disminución o desaparición de la absorbancia. Como se observa en la figura 5, los resultados de la actividad antioxidante mediante el método DPPH del extracto de hojas del género *Cinchona* “quina” en las especies roja y verde a las concentraciones de 25 , 50 y 100 $\mu\text{g/mL}$. El extracto de la especie roja, a la concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$, presenta mayor actividad antioxidante ($48,7 \pm 4,79$ %) respecto a la especie verde ($39,9 \pm 3,58$ %), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Aunque presentaron valores estadísticamente menores ($p < 0,05$) al estándar Trolox ($95,5 \pm 0,12\%$).

Así mismo, se presenta los valores de la concentración media inhibitoria. Está establecido que a menor valor de la concentración media inhibitoria (CI_{50}), mayor es la actividad antioxidante por lo tanto hay mayor consumo de DPPH. Teniendo en cuenta lo anterior se observó que el extracto de la especie roja presenta mayor actividad antioxidante ($104,89 \pm 9,35 \mu\text{g/mL}$), respecto a la especie verde ($122,1 \pm 9,32 \mu\text{g/mL}$), aunque estadística menor al Trolox ($39,7 \pm 0,43 \mu\text{g/mL}$), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Por otro lado según Ravishankara, Harish y Rajani ⁽⁶⁾ en su estudio determinaron la actividad antioxidante de *Cinchona officinalis* **L** donde reportaron que los extractos metanólicos y acuosos tienen actividad antioxidante los cuales dependen de la concentración para inhibir el radical DPPH, mostrando un CI_{50} de $8,08 \mu\text{g/mL}$ y $64,19 \mu\text{g/mL}$ respectivamente. Finalmente según Barukcic y Sola ⁽⁸⁾ en su estudio determinaron la actividad antioxidante de *Cinchona pubescens* Vhal donde mostraron que la captación de radicales DPPH inició a concentraciones bajas del extracto y se mantuvo constante a una concentración intermedia de $0,133 \text{ mg/ml}$, tuvo un CI_{50} de $0,0466 \text{ mg/ml}$ eso quiere decir que para inhibir un 50% la oxidación del radical DPPH la *Cinchona pubescens* Vhal necesita $0,0466 \text{ mg/ml}$. Siendo mayores estos resultados con respecto a los resultados que se observan en la figura 5, lo cual se puede deber a que usaron la corteza y al tipo de extracción a la que sometieron las muestras, donde usaron etanol al 96% dejándolo reposar de 30 a 45 minutos y luego procedieron a la percolación, filtración al vacío y desecado de la muestra en la estufa eléctrica a unos 60°C .

Rioja et al.⁽⁵¹⁾ en su estudio nos mencionan que, el radical ABTS es uno de los más usados, el cual origina resultados reproducibles y coherentes, además, el ABTS es un método rápido el cual permite al analista ahorrar tiempo a diferencia de otros métodos de determinación de la capacidad antioxidante. Por otro lado Ingaroca ⁽¹⁷⁾ en su estudio determinó la capacidad antioxidante usando el método ABTS donde nos menciona que este método se basa en las reacciones de transferencia de electrones (ET) y reacciones de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT). Donde el catión radical ABTS de color característico verde azulado, al reaccionar con una sustancia antioxidante mide la capacidad captadora de radicales libres a través de la decoloración de este radical ABTS y entre mayor sea la capacidad antioxidante del polifenol, mayor será la decoloración generado sobre el radical ABTS.

Como se puede observar en la figura 6, se muestran los valores del porcentaje de actividad antioxidante por el método ABTS de del extracto de hojas del género *Cinchona* “quina” en las especies roja y verde a las concentraciones de 150, 200 y 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$. El extracto de la especie roja, a la concentración de 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$, presenta mayor actividad antioxidante ($66,1 \pm 4,37 \%$) respecto a la especie verde ($66,1 \pm 10,9\%$), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Aunque presentaron valores estadísticamente menores ($p < 0,05$) al estándar Trolox ($82,7 \pm 2,23\%$)

Así mismo, se presenta los valores de la concentración media inhibitoria. Está establecido que a menor valor de la concentración media inhibitoria (CI_{50}), mayor es la actividad antioxidante. El extracto de la especie roja presenta mayor actividad antioxidante ($178,3 \pm 10,74 \mu\text{g}/\text{mL}$), respecto a la especie verde ($203,1 \pm 29,39 \mu\text{g}/\text{mL}$), aunque estadística menor al Trolox ($143,8 \pm 2,48 \mu\text{g}/\text{mL}$), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Por su parte Barukcic y Sola ⁽⁸⁾ en su estudio determinaron la capacidad antioxidante por el método ABTS para el extracto de *Cinchona pubescens Vhal* y obtuvieron un CI_{50} de 0,082 mg/ml donde pese a su baja capacidad antioxidante era útil para ser utilizado como un activo en las formulaciones cosméticas, ya que se observó la inhibición de los radiales en la solución con ABTS donde se evidenciaba la perdida de color semejante al estándar. Finalmente Franco et al.⁽⁵²⁾ en su estudio realizaron la capacidad antioxidante de 4 especies vegetales donde observaron que los datos coinciden con los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico. Llegando a la conclusión de que la presencia de estos metabolitos secundarios contenidos en las diversas especies (saponinas, flavonoides y aminoácidos libres) contribuían a alcanzar niveles elevados para un mayor potencial de inhibición mediante el método de DPPH y ABTS; y de esta manera contribuían a la capacidad antioxidante in vitro. Es así que al comparar los resultados plasmados en las figuras 5 y 6 podremos observar y deducir que los metabolitos encontrados en las dos especies del genero *Cinchona* “quina” constituyen una buena fuente de sustancias antioxidantes.

Se puede observar que hay diferencias entre los dos ensayos de captura de radicales libres (DPPH·y ABTS·+) que se emplearon. Ambos ensayos miden la capacidad de los antioxidantes presentes en una muestra para capturar el radical libre, sin embargo, sus condiciones de reacción y cinética son diferentes. Además, otra importante diferencia entre ambos ensayos es que el ABTS·+ puede medir la

actividad antioxidante en un medio orgánico u acuoso teniendo en cuenta la naturaleza hidrosoluble o liposoluble de los compuestos en la muestra. Contrario a esto, el ensayo con DPPH· solo se puede realizar en un medio orgánico, lo cual es una limitante al momento de la interpretación de la capacidad antioxidante de los compuestos hidrofílicos presentes en una muestra, esta situación justifica las diferencias que se evidencian entre ambas determinaciones colorimétricas como se observan en las figuras 5 y 6.

Las investigaciones realizadas en la Universidad Nacional de san Cristóbal de Huamanga respecto a las plantas medicinales van teniendo importancia científica que corrobora el conocimiento popular y terapéutico de las hojas de *Cinchona officinalis* L. y *pubescens* Vahl como un agente antiviral. No se han encontrado trabajos específicos de la actividad antiviral del genero *Cinchona* (quina), sin embargo existen trabajos relacionados a la actividad antiviral de la familia Rubiaceae a la que pertenece la *Cinchona*, encontrándose numerosos estudios que avalan la actividad antiviral.

Al realizar la comparación de los resultados del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cinchona officinalis* L. “cascarilla verde” y de *Cinchona pubescens* Vahl. “cascarilla colorada”, se evidencio que hay una mayor formación de calvas o UFP en la cascarilla colorada a diferencia de la cascarilla verde, lo cual nos indica que el extracto hidroalcohólico de las hojas de la cascarilla verde tuvo mayor efecto antiviral. Este resultado se podría deber a la presencia de los metabolitos secundarios presentes en las dos especies del genero *Cinchona* “quina” como se describe en la tabla 3 de la identificación fitoquímica, y en la figura 4 donde se muestra que la cascarilla verde muestra mayor contenido de fenoles y flavonoides. En la tabla 4, se muestran los valores de la actividad antiviral del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cinchona officinalis* L. “cascarilla verde” la cual se midió a través de la formación de calvas o de las unidades formadoras de placa de lisis (UFP), donde se observa que los valores de los UFP disminuyen a medida que aumenta la concentración ($p < 0,05$) y a medida que se incrementa el tiempo ($p > 0,05$). Así mismo en la tabla 5, se muestran los valores de la actividad antiviral del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cinchona pubescens* Vahl. “cascarilla colorada” a través de la formación de calvas o de las unidades formadoras de placa de lisis (UFP), donde se observa que los valores de los UFP disminuyen a medida que aumenta la concentración ($p < 0,05$) y a medida que se incrementa el tiempo ($p > 0,05$).

Al comparar los resultados plasmados en la tabla 4 y 5 de la actividad antiviral de los extractos de *Cinchona officinalis* L. “cascaquilla verde” y *Cinchona pubescens* Vahl. “cascaquilla colorada” en presencia de los fagos se observa un mayor efecto en la especie de *Cinchona officinalis* L. “cascaquilla verde”, a su vez se compararon los tiempos de exposición a los cuales se sometieron los virus con los extractos, donde se evidencio que a una concentración máxima de 2,5 mg/ml de extracto a un tiempo de exposición de 10 minutos y a la concentración mínima de 0,32 mg/ml a un tiempo de exposición de 80 minutos no se formó ninguna calva o UFP, lo cual muestra que a mayor concentración y tiempo de exposición disminuyen o hay ausencia de calvas o UFP, esta respuesta se debe a la presencia de los triterpenos (figura 4) donde la especie de *Cinchona officinalis* L. “cascaquilla verde” posee mayor cantidad de estos metabolitos secundarios, de esta manera actúa inhibiendo el crecimiento de las partículas virales. A diferencia de la *Cinchona pubescens* Vahl. “cascaquilla colorada” la cual a la concentración de 2,5 a un tiempo de exposición de 10 minutos y 0,63 a un tiempo de exposición de 80 minutos no se formó ninguna calva o UFP.

Así mismo López ⁽³²⁾ en su estudio determino la actividad antiviral y antioxidante de los extractos de guanaba “*Annona muricata* L.” donde se muestra actividad antiviral del extracto a una concentración de .025mg/ml. Donde mide la disminución de calvas a cinco tiempos de exposición y en el tiempo 0 min se obtuvo una reducción de 4log₁₀ UFP/ml, durante los siguientes tiempos de exposición de 15 y 30 min se obtuvieron reducciones de 5log₁₀ UFP/ml, se observó que la actividad antiviral del extracto fue mayor durante el cuarto tiempo de exposición de 60 min arrojando valores de reducción de 7log₁₀ UFP/ml y para el último tiempo de exposición de 360 min la reducción del colifago Av08, fue total. Los resultados obtenidos lo comparo con el control Av08 en BPS donde se muestra que no hubo una reducción significativa en el titulo viral durante los 360 minutos.

Al comparar los resultados obtenidos, se podría considerar a los extractos hidroalcohólicos de las hojas de las dos especies del género *Cinchona* “quina” para ser analizadas como fuentes promisorias de componentes o principios activos (compuestos fenólicos) con actividad antiviral que deberían ser aislados e identificados.

VI. CONCLUSIONES

- Los metabolitos identificados en la identificación fitoquímica de las hojas de las dos especies del género *Cinchona* “quina” fueron: alcaloides, flavonas, flavonoles, fenoles derivados del catecol, flavononas, taninos, saponinas y lactonas insaturadas, triterpenos y glicósidos cardiotónicos.
- Los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Cinchona officinalis* L. y *Cinchona pubescens* Vahl presentan actividad antioxidante *in vitro* frente al radical DPPH con una concentración inhibitoria de CI_{50} de 122,1 $\mu\text{g/mL}$ y 104,9 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente.
- Los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Cinchona officinalis* L. y *Cinchona pubescens* Vahl presentan actividad antioxidante *in vitro* frente al radical ABTS con una concentración inhibitoria de CI_{50} de 203,1 $\mu\text{g/mL}$ y 178,3 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente.
- Al comparar los valores de la formación de calvas o UFP por el efecto de los extractos hidroalcohólicos de las hojas del genero *Cinchona* “quina”, se determinó que ambos presentan actividad antiviral pero *Cinchona officinalis* L. tiene mayor efecto antiviral a diferencia de la y *Cinchona pubescens* Vahl.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar la extracción de compuestos con actividad antioxidante con otros solventes y otras técnicas.
- Caracterizar mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) los compuestos fenólicos presentes en las dos especies de género *Cinchona* estudiadas.
- Evaluar la actividad antioxidante de las otras partes aéreas (ramas, frutos, flores) de las especies del género *Cinchona*.
- Comprobada la actividad antioxidante y antiviral de las hojas del género *Cinchona* se recomienda realizar estudios adicionales para evaluar otras actividades biológicas potenciales.
- Realizar estudios clínicos y farmacológicos para evaluar la eficacia y seguridad del extracto hidroalcohólico de las hojas de las especies del género *Cinchona*.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BIOPAT PERÚ Quina [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/2jo3wZ>
2. Paniagua-N, et al. *Cinchona officinalis* L. *Cinchona pubescens* Vahl RUBIACEAE. 2020; 6. [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/7Y2FTh>
3. Cifuentes C. Estudio de la composición química del tónico amargo de la corteza de quina roja (*Cinchona pubescens*). [Tesis Internet] Riobamba-Ecuador. Reposit Esc sup polit de Chimborazo. 2013. Disponible en: <https://acortar.link/c04z7N>
4. Romero H, Efecto del extracto metanólico de la corteza de *Cinchona officinalis* L. (Cascaquilla) en el comportamiento sexual de ratas machos [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/JZWven>
5. Cuyubamba E, et al. Estudio químico de los tallos de *Cinchona pubescens* Vahl. Rev Soc Quím Perú. 2009; 11. [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/LxJr9u>
6. Ravishankara M, et al. Antioxidant activity of cinchona officinalis stem bark extracts India 2003 [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/hkXcwO>
7. De la cruz E. Efecto antiviral del extracto alcohólico y acuoso de *Piper elongatum* L «Matico» ayacucho. 2009 [Tesis]. [Ayacucho - Perú]: UNSCH; 2009.
8. Barukcic A, et al. Desarrollo de formulaciones fito-cosméticas antioxidantes empleando como sustancia activa el extracto seco de *Cinchona pubescens* Vahl, RUBIACEAE (Cascaquilla) [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/WajSBX>
9. Zevallos P. Taxonomía, distribución, geografía y estatus del género *Cinchona* en el Perú. Lima - Perú; 2014.
10. Bonilla A. "Estudio fitoquímico y actividad antioxidante in vitro de hojas y flores de *Passiflora manicata*". Riobamba - Ecuad. 2016; 78. [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/NeBxdx>
11. Sánchez K, et al. Identificación de metabolitos secundarios en *Critoniella acuminata* (Kunth) R.M. King y H. Rob. Determinación de su actividad antioxidante. 2018; 43 [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/mUXdNX>
12. Ávalos A, et al. Metabolismo secundario de plantas.pdf [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/4xyjq>
13. Rúa N. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Psidium guajava* L. «Guayaba». Ayacucho-2013. Univ Nac San Cristóbal Huamanga [Internet]. 2014 [citado 17 de julio de 2021]; Disponible en: <https://acortar.link/ZrMEPG>
14. Berrocal K. Contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018. 2018; 94. [Internet]. 2014 [citado 17 de julio de 2021]; Disponible en: <https://acortar.link/xelPt8>
15. Torres V. Contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante de *Brachyotum naudinii* Triana "qihwncha", Ayacucho 2018. [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/CUyalo>
16. Peñarrieta J, et al. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. Rev Boliv Quím. 2014; 31:15. [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/YqL6sT>
17. Ingaroca S. Composición química, actividad antioxidante y efecto fungistático sobre *Candida albicans* del aceite esencial de *Piper aduncum* L. "matico" [Internet]. [Lima - Perú]: UNMSM; 2019. Disponible en: <https://acortar.link/t3VY8C>

18. Vargas H. Contenido de flavonoides y fenoles totales en hojas de tres especies del género *Senecio* y determinación de su actividad antioxidante *in vitro*. Ayacucho, 2017 Repos UNSCH. 2018; 111. [Tesis Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/XCiLVH>
19. Ayvar J. Actividad antiinflamatoria y antioxidante in vitro de la fracción flavonoica aislada de las hojas de *Nasturtium officinale* R.Br. "berro". Ayacucho 2017. Repos UNSCH. 2017; 107. [Tesis Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/tryzeB>
20. Colina A. Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de "*Muehlenbeckia hastulata* (J.E.Sm) I.M. Johnst" de la zona de Yucay (Cusco) [Internet] [Tesis]. [Lima - Perú]; 2016. Disponible en: <https://acortar.link/oFBsfP>
21. Ruibal I, et al. Inhibición de la replicación del virus de inmunodeficiencia humana por extractos de taninos de *Pinus caribaea* Morelet. *Rev Cuba Farm.* Agosto de 2003; 37(2):0-0. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/Ox5gjp>
22. Villalta I. Compuestos Fenólicos, Taninos [Internet]. Diapositivas presentado en; 2015 nov 17 [citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/Me6Eg0>
23. Isaza J. Taninos O Polifenoles Vegetale [Internet]. 2007 [citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/2b0rik>
24. Villamizar M, et al. Terpenos con actividad biológica anti-VIH. 2010;7:18. [Internet]. 2010 [citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/dLA0yR>
25. Gonzalez A, et al. Terpenos. En: Los compuestos Bioactivos y Tecnologías de Extracción. Primera Edición, 2016. Nanobio; 2016. p. 33-49. [citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/jLOsXK>
26. Blanco L. Tema 7: Lípidos no relacionados con ácidos grasos. Terpenoides, carotenoides, esteroides. Instituto Superior Carmen Molina de Llano Asignatura: Química. - ppt descargar [Internet]. [citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/CpVWQy>
27. Perez N. Terpenos/terpenoides. 2014; 88. [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://goo.su/MOV>
28. Criado C, et al. Vitaminas y antioxidantes. *el médico.* 2009;33. [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: http://2011.elmedicointeractivo.com/Documentos/doc/VITAMINAS_Y_ANTIOX_EL_MEDICO.pdf
29. Venero J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. 2002;8. [Internet]. [Citado 17 de julio de <https://acortar.link/SLZ3X> 2021]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mil/v31n2/mil09202.pdf>
30. Alomar M. Antioxidantes: captadores de radicales libres ó sinónimo de salud? :11. [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/HZnLZ>
31. Korc I, et al. Radicales libres: Bioquímica y sistemas antioxidantes Implicancia en la patología neonatal. 15. [Internet]. [Citado 17 de julio de 2021]. Disponible en: <https://acortar.link/0MYbwt>
32. López L. Evaluación de la actividad antiviral y antioxidante de los extractos de hojas de Guanábana (*Annona muricata* L) 2015 [Tesis]. [Ciudad Obregón - Sonora]. UNS.2015.
33. Enciso E, et al. Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. *An Fac Med.* Diciembre de 2011;72(4):231-7. Disponible en: <https://goo.su/B72>

34. Castañeda B, et al. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas [Internet]. [Citado 18 de julio de 2021]. Disponible en: <https://goo.su/9zMN>
35. Negroni M, et al. Virus: Generalidades 2017 [Internet]. [Citado 18 de julio de 2021]. Disponible en: <https://goo.su/Ee5>
36. Alarcón D, et al. Virus: pequeños gigantes que dominan el planeta 2018 [Internet]. [Citado 18 de julio de 2021]. Disponible en: <https://goo.su/9liy>
37. Urcuqui S, et al. Principios de Virología. Itaguí - Colombia. Artes y letras Ltda. 2008. [Internet]. [Citado 18 de julio de 2021]. Disponible en: <https://goo.su/jQY>
38. Murray PR, et al. Microbiología Médica. España. S.A. ELSEVIER ESPAÑA. Sexta. 2009.
39. Alegre A. Aislamiento y caracterización de un bacteriófago lítico de *Listeria monocytogenes* [Internet]. [Citado 18 de julio de 2021]. Disponible en: <https://goo.su/9R11>
40. Gavina G, et al. Técnica para aislamiento de bacteriófagos específicos para *E.coli* DH5 α a partir de aguas residuales. Rev MVZ Córdoba. 4 de enero de 2012;17: 2852. [Internet].2010 [Citado 18 de julio de 2021]. Disponible en: <https://goo.su/Gje>
41. Castaño J. Bacteriófagos: aspectos generales y aplicaciones clínicas. Hechos Microbiológicos. 2015; 6(1-2):36-51. [Internet] [Citado 18 de julio de 2021]. Disponible en: <https://goo.su/Yl0>
42. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica Metodo en el estudio de productos naturales. Perú; 1994.
43. Miranda M. "Métodos de análisis de drogas y extractos". Universidad de la Habana - Cuba.1996.
44. Oropeza M. "Alcaloides totales y actividad antioxidante de extractos metanólicos de hojas de *Ipomoea murucoides* (casahuate)" 2012 [Internet]. [Citado 18 de julio de 2021]. Disponible en: <https://goo.su/T1N>
45. Sousa C, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Quím Nova. abril de 2007;30:351-5. [Internet]. [Citado 18 de julio de 2021]. Disponible en: <https://goo.su/Pgo>
46. Gracia M. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. :4. [Internet]. [Citado 18 de julio de 2021]. Disponible en: <https://goo.su/Vld>
47. Alarcón J, et al. Guía de Prácticas de Virología. Ayacucho. En Ayacucho. Perú; 2006.
48. Gamazo C. Manual Práctico de Microbiología. España: Elsevier; 2005.
49. García E, et al. Determinación de polifenoles totales por el método de FolinCiocalteu [Internet]. [Citado 10 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://goo.su/9YKK>
50. Amaya R, et al. Determinación de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el ingenio chaparrastique por el método de espectrofotometría ultravioleta-visible. [Internet]. El salvador [Citado 18 de julio de 2021] univ de el salvador. 2013 Disponible en: <https://goo.su/uOz>
51. Rioja A, et al. Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de *chenopodium quinoa*. Rev Boliv Quím. 2018;35 (5):168-76. [Internet]. [Citado 18 de julio de 2021] <https://goo.su/9L69>
52. Franco C, et al. Características fitoquímicas y capacidad antioxidante in vitro de *Aloe vera*, *Plukenetia volubilis*, *Caiophora carduifolia*, *Cecropia membranacea*. An Fac Med. 12 de abril de 2016;77 (1):9. [Internet] Disponible en: <https://goo.su/Lsv>

IX. ANEXOS

ANEXO 1. Certificado de identificación de Cinchona officinalis L “quina verde”, Ayacucho 2020.

CONSTANCIA

LA BIÓLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:

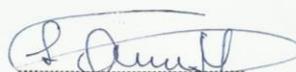
Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Mitza, MIGUEL YUPANQUI, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988, siendo su taxonomía la siguiente:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	RUBIALES
FAMILIA	:	RUBIACEAE
GENERO	:	Cinchona
ESPECIE	:	<i>Cinchona officinalis</i> L.
N.V.	:	"quina", "cascarilla verde"

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

Ayacucho, 13 de Agosto del 2020.


LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

ANEXO 2. Certificado de identificación de *Cinchona pubescens Vahl* "quina roja", Ayacucho 2020.

CONSTANCIA

LA BIÓLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Mitza, MIGUEL YUPANQUI, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988, siendo su taxonomía la siguiente:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	RUBIALES
FAMILIA	:	RUBIACEAE
GENERO	:	Cinchona
ESPECIE	:	<i>Cinchona pubescens Vahl.</i>
N.V.	:	"quina ", " cascarilla colorada"

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

Ayacucho, 13 de Agosto del 2020.


LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

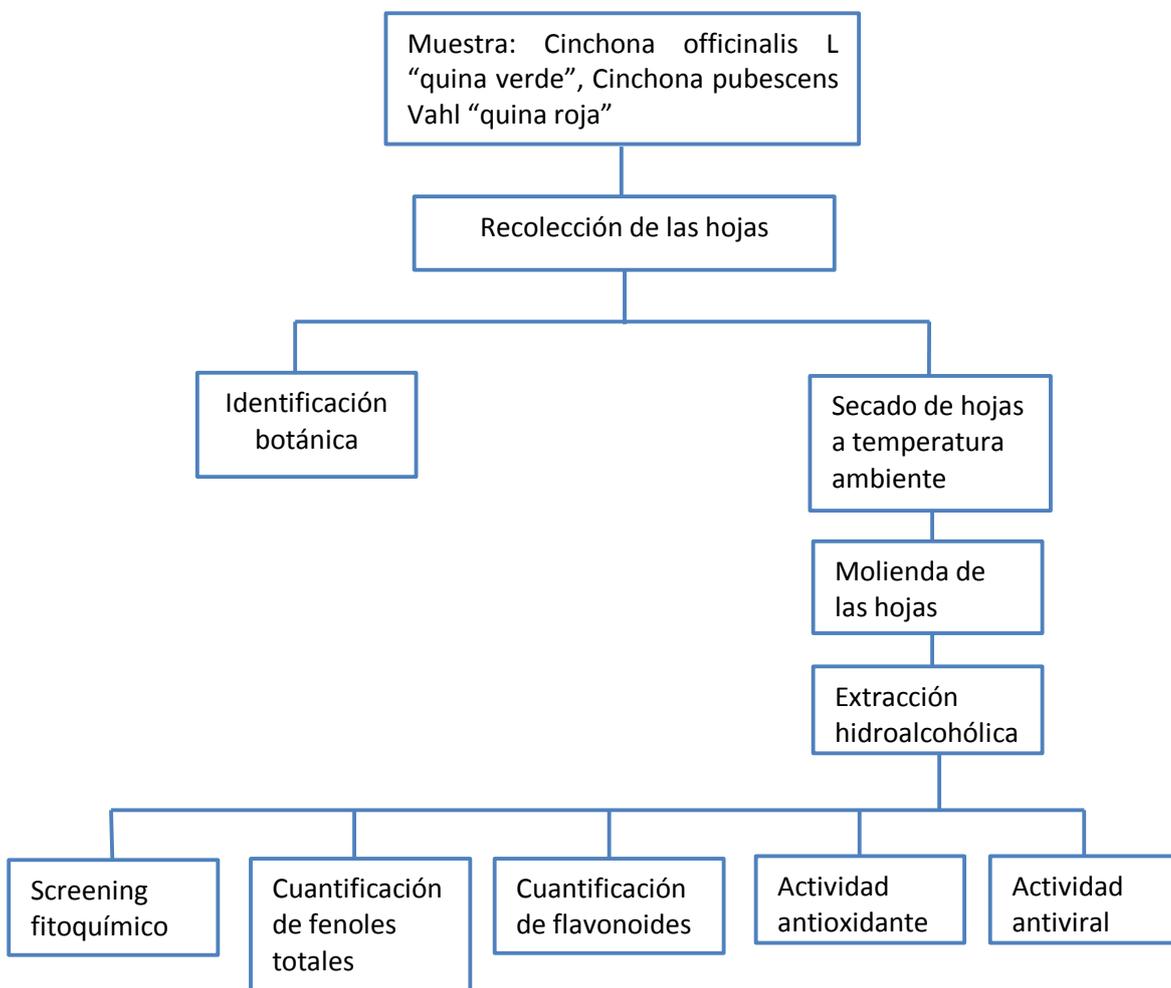
ANEXO 3. Hojas y frutos de *Cinchona officinalis* L “quina verde” en el Laboratorio de Bioquímica, Ayacucho 2020.



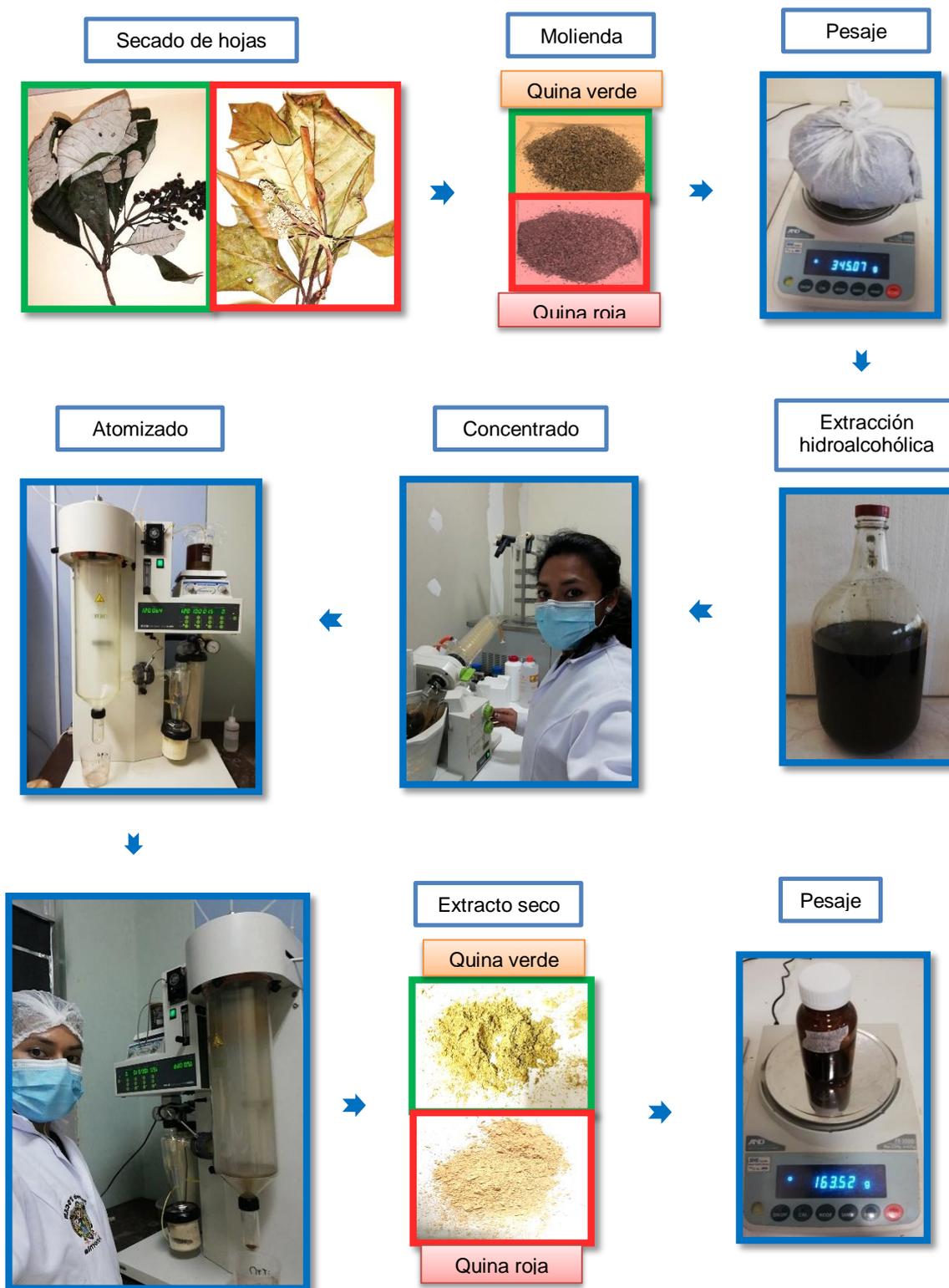
ANEXO 4. Hojas y flores de *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja” en el Laboratorio de Bioquímica, Ayacucho 2020.



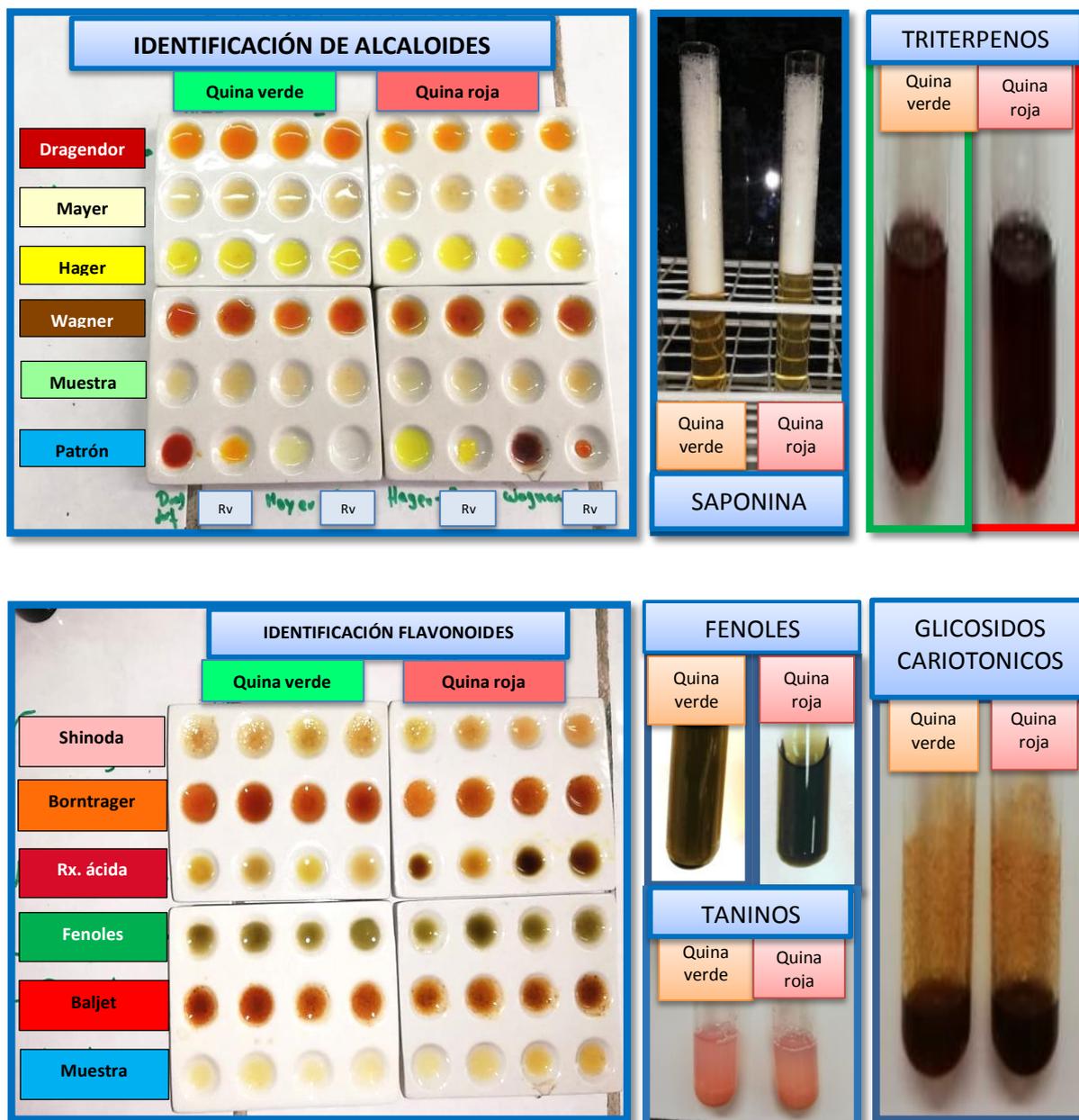
ANEXO 5. Flujograma de procedimientos para la determinación de la actividad antioxidante y antiviral de los extractos de *Cinchona officinalis* L “quina verde” y *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020.



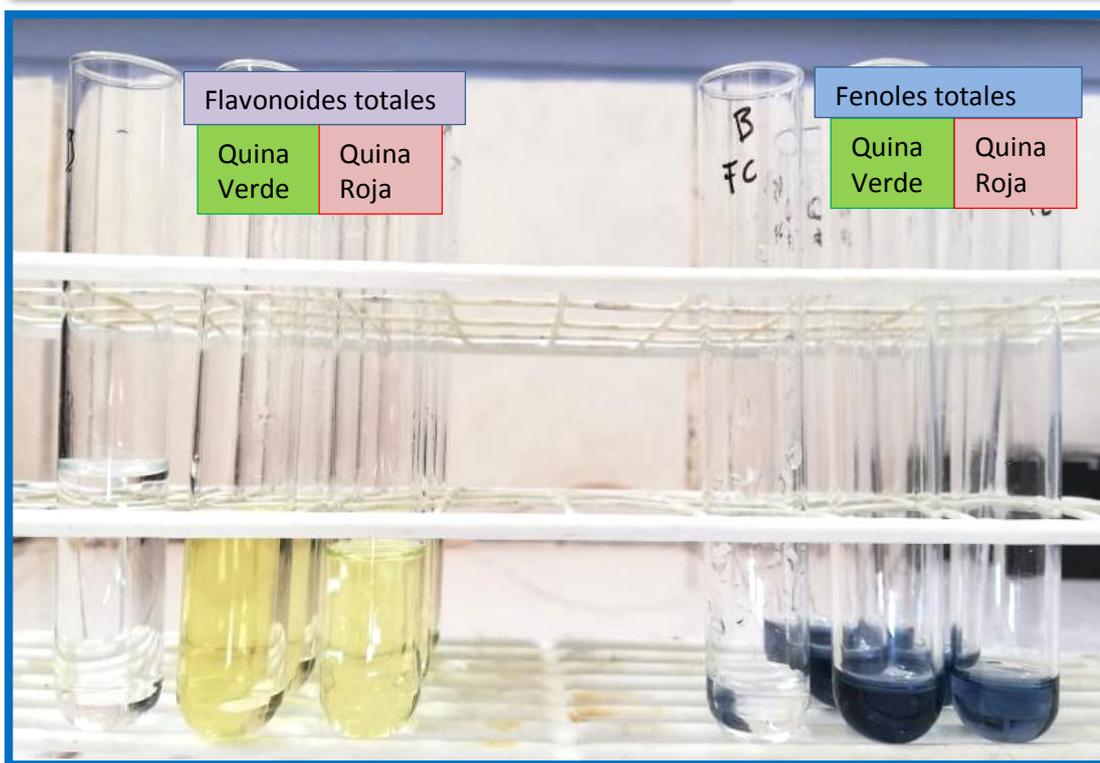
ANEXO 6. Procedimiento de la obtención del extracto hidroalcohólico de las especies *Cinchona officinalis* L “quina verde” y *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja” en el Laboratorio del centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF), Ayacucho 2020.



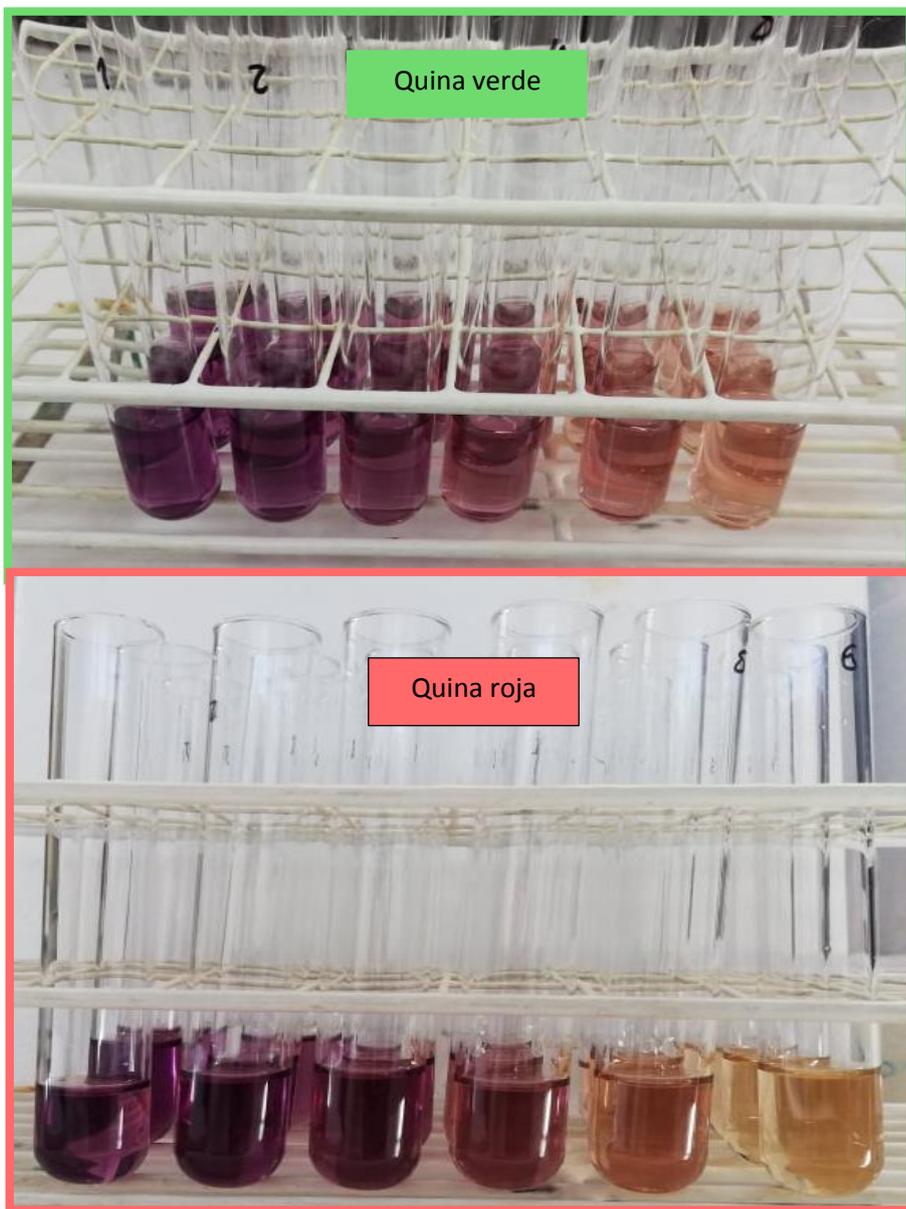
ANEXO 7. Resultado de la identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cinchona officinalis* L “quina verde” y *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja” en el Laboratorio de Bioquímica, Ayacucho 2020.



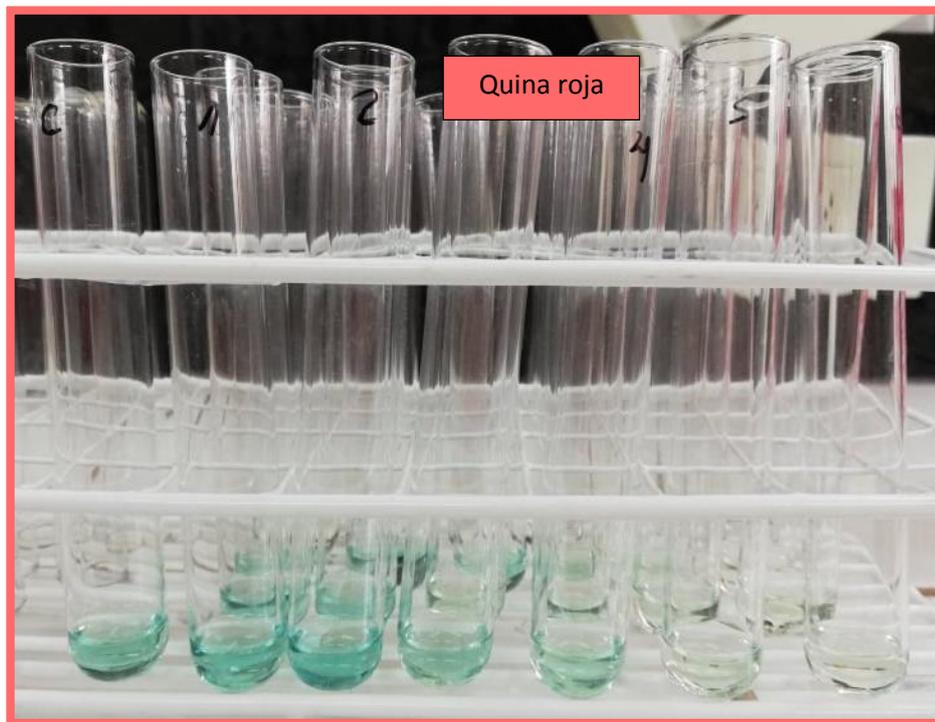
ANEXO 8. Cuantificación de fenoles totales y flavonoides totales del extracto hidroalcohólico de *Cinchona officinalis* L “quina verde” y *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja” en el Laboratorio del centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF), Ayacucho 2020.



ANEXO 9. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH de *Cinchona officinalis* L “quina verde” y *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja” en el Laboratorio del centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF), Ayacucho 2020.



ANEXO 10. Fotografías de la determinación de la actividad antioxidante por el método del radical ABTS de *Cinchona officinalis* L “quina verde” y *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja” en el Laboratorio del centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF), Ayacucho 2020.



ANEXO 11. Fotografías de la recolección del agua residual de la planta de tratamiento de totorilla y obtención del bacteriófago en los Laboratorios de Virología, Ayacucho 2020.



Aislamiento del bacteriófago por filtración al vacío.



ANEXO 13. Procedimiento para la obtención de la cepa hospedera E. coli ATCC 13706 en los Laboratorios de Virología, Ayacucho 2020.

Pesaje de caldo y agar nutritivo



Siembra de la cepa de E. Coli ATCC 13706 en agar inclinado



Siembra de la cepa E. coli ATCC 13706 en caldo



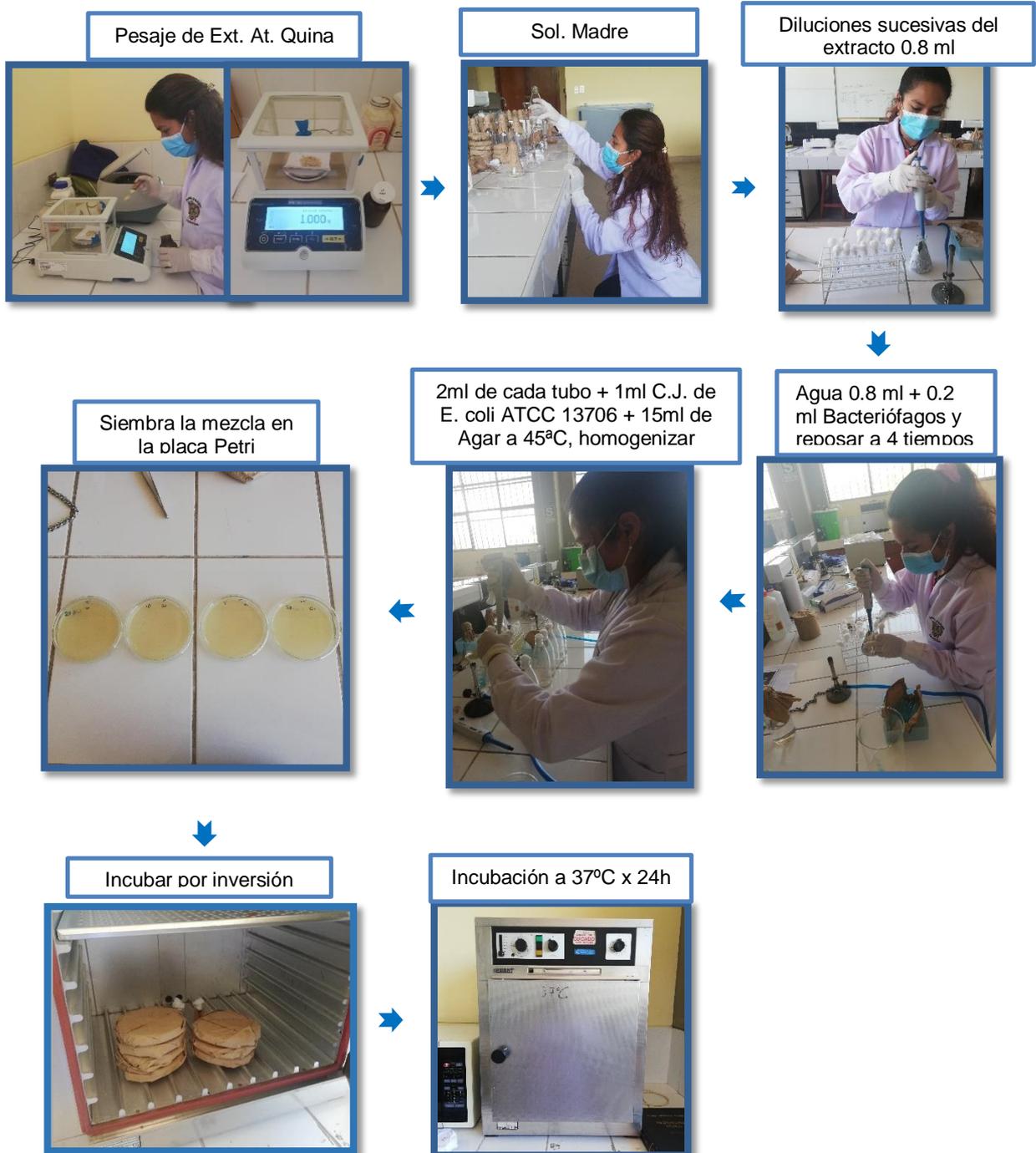
Obtención de cultivo joven de la cepa E.ATCC 13706
 10^8 Bac/mL



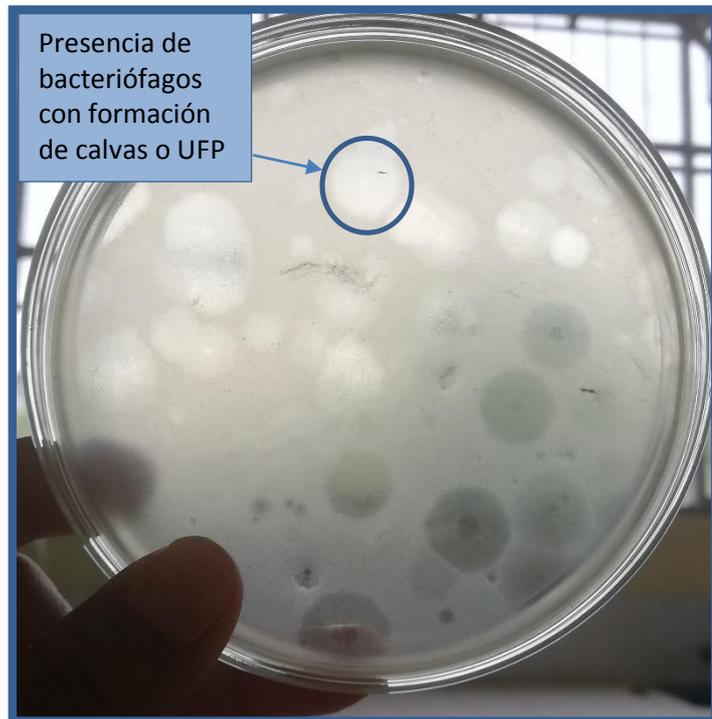
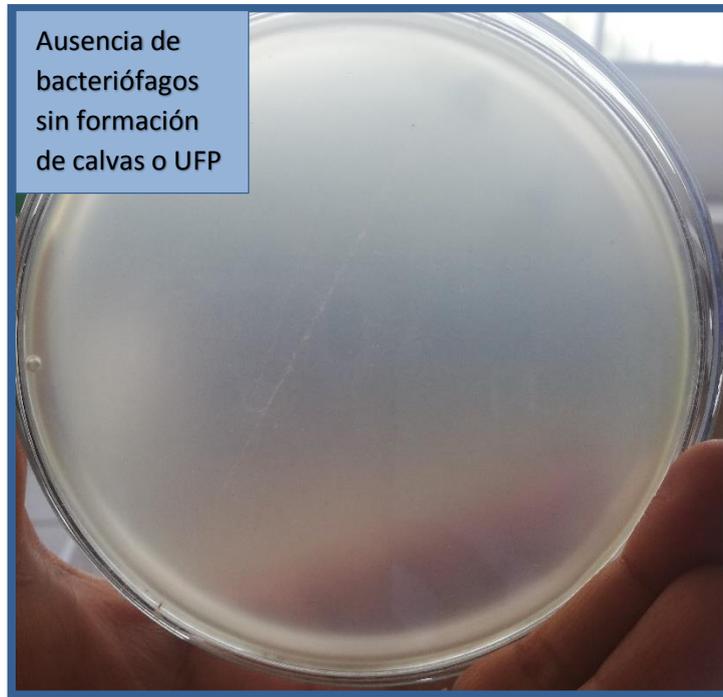
Incubación a 37°C por 24 horas



ANEXO 14. Procedimiento de la actividad antiviral del extracto hidroalcohólico de las especies *Cinchona officinalis* L “quina verde” y *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja” en los Laboratorios de Virología, Ayacucho 2020.



ANEXO 15. Resultados de la formación de Calvas o Unidades Formadoras de Placa de lisis por mL (UFP/mL) en los Laboratorios de Virología, Ayacucho 2020.



ANEXO 16. Prueba de T Student de muestras independientes de la media del contenido de fenoles totales en hojas de *Cinchona officinalis* L “quina verde” y *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020.

	Prueba de Levene de igualdad de varianzas		Prueba t para la igualdad de medias					95% de intervalo de confianza de la diferencia	
	F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral) (p-valor)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	4,418	0,103	-3,807	4,000	0,019	-49,367	12,967	-85,370	-13,364
No se asumen varianzas iguales			-3,807	2,518	0,043	-49,367	12,967	-95,485	-3,249

ANEXO 17. Prueba de T Student de muestras independientes de la media del contenido de flavonoides de hojas de *Cinchona officinalis* L “quina verde” y *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020.

	Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias					95% de intervalo de confianza de la diferencia	
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral) (p-valor)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	0,239	0,651	-16,207	4,000	8,5 x 10⁻⁵	-6,833	0,422	-8,004	-5,663
No se asumen varianzas iguales			-16,207	3,827	1,1 x 10 ⁻⁴	-6,833	0,422	-8,025	-5,642

ANEXO 18. Análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método DPPH de hojas de *Cinchona officinalis* L “quina verde” y *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig. (p-valor)
Entre grupos	14322,3	8,0	1790,3	1234,9	4,7 x 10 ⁻²³
Dentro de grupos	26,1	18,0	1,4		
Total	14348,4	26			

ANEXO 19. Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antioxidante por el método DPPH de hojas de *Cinchona officinalis* L “quina verde” y *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020.

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA							
		g	f	e	d	d	c	b	a
Quina verde 25 ug/mL	3	11, 9							
Quina verde 50 ug/mL	3		22, 8						
Trolox 25 ug/mL	3			25, 6					
Quina roja 25 ug/mL	3				0,0				
Quina roja 50 ug/mL	3					0,0			
Quina verde 100 ug/mL	3					39, 9			
Quina roja 100 ug/mL	3						48, 8		
Trolox 50 ug/mL	3							0,0	
Trolox 100 ug/mL									0,0
Sig.		1,0 0	1,0 0	0,1 2	1,0 0	1,0 0	0,1 0	1,0 0	0,0 0

ANEXO 20. Análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método ABTS de hojas de *Cinchona officinalis* L “quina verde” y *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4444,0	8,0	555,5	90,4	6,0 X 10 ⁻¹³
Dentro de grupos	110,5	18,0	6,1		
Total	4554,5	26			

ANEXO 21. Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antioxidante por el método ABTS de hojas de *Cinchona officinalis* L “quina verde” y *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020.

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA						
		g	f	e	d	c	b	a
Quina verde 150 ug/mL	3	38,0						
Quina roja 150 ug/mL	3		43,7					
Quina verde 200 ug/mL	3			49,6				
Trolox 150 ug/mL	3			53,6	53,6			
Quina roja 200 ug/mL	3				57,8	57,8		
Quina verde 250 ug/mL	3					61,1		
Quina roja 250 ug/mL	3						66,0	
Trolox 200 ug/mL	3						68,0	
Trolox 250 ug/mL	3							82,8
Sig.	0	1,00	1,00	0,06	0,05	0,12	0,34	1,00

ANEXO 22. Media y desviación estándar de la actividad antiviral a un tiempo de exposición de 10 minutos de *Cinchona officinalis* L “quina verde”, Ayacucho 2020.

Descriptivos								
UFP_10 minutos – Quina verde								
Concentración (mg/mL)	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
2,5	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,25	4	1,25	2,50	1,25	-2,73	5,23	0,00	5,00
0,63	4	2,50	2,89	1,44	-2,09	7,09	0,00	5,00
0,32	4	11,25	4,79	2,39	3,63	18,87	5,00	15,00
0,16	4	22,50	6,45	3,23	12,23	32,77	15,00	30,00
0,08	4	36,25	8,54	4,27	22,66	49,84	25,00	45,00
0	4	180,00	0,00	0,00	180,00	180,00	180,00	180,00
Total	28	36,25	61,19	11,56	12,52	59,98	0,00	180,00

ANEXO 23. Análisis de varianza de la actividad antiviral de *Cinchona officinalis* L “quina verde” a un tiempo de exposición de 10 minutos, Ayacucho 2020.

Tratamiento	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4192,7	5	838,5	33,082	1,8 x 10 ⁻⁸
Dentro de grupos	456,3	18	25,3		
Total	4649,0	23			

ANEXO 24. Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antiviral *Cinchona officinalis* L “quina verde” a un tiempo de exposición de 10 minutos, Ayacucho 2020.

Concentración (mg/mL)	N	Subconjunto homogéneos				
		e	d	c	b	a
2,5	4	0,0				
1,25	4	1,3				
0,63	4	2,5				
0,32	4		11,3			
0,16	4			22,5		
0,08	4				36,3	
0	4					180,0
Sig.		0,52	1,00	1,00	1,00	1,00

ANEXO 25. Media y desviación estándar de la actividad antiviral a un tiempo de exposición de 20 minutos de *Cinchona officinalis* L “quina verde”, Ayacucho 2020.

Descriptivos

UFP_20

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínim o	Máxim o
					Límite inferior	Límite superior		
2,5	4	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	0,00	0,00
1,2 5	4	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	0,00	0,00
0,6 3	4	3,7500	2,50000	1,25000	-,2281	7,7281	0,00	5,00
0,3 2	4	8,7500	2,50000	1,25000	4,7719	12,7281	5,00	10,00
0,1 6	4	18,7500	2,50000	1,25000	14,7719	22,7281	15,00	20,00
0,0 8	4	35,0000	4,08248	2,04124	28,5039	41,4961	30,00	40,00
0	4	180,000 0	0,00000	0,00000	180,000 0	180,000 0	180,0 0	180,0 0
Tot al	2 8	35,1786	61,38045	11,5998 1	11,3777	58,9794	0,00	180,0 0

ANEXO 26. Análisis de varianza de la actividad antiviral de *Cinchona officinalis* L “quina verde” a un tiempo de exposición de 20 minutos, Ayacucho 2020.

Tratamiento	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Entre grupos	101617,9	6	16936,3	3347,412	$3,6 \times 10^{-30}$
Dentro de grupos	106,3	21	5,1		
Total	101724,1	27			

Si p-valor es menor a 0,05 entonces por lo menos uno de los promedios es diferente del resto.

ANEXO 27. Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antiviral *Cinchona officinalis* L “quina verde” a un tiempo de exposición de 20 minutos, Ayacucho 2020

UFP_20

Duncan ^a		Subconjunto para alfa = 0.05					
Factor_UF	N	1	2	3	4	5	6
2,5	4	0,0000					
1,25	4	0,0000					
0,63	4		3,750 0				
0,32	4			8,750 0			
0,16	4				18,750 0		
0,08	4					35,000 0	
0	4						180,000 0
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Los promedios que se encuentran en la misma columna son estadísticamente similares

ANEXO 28. Media y desviación estándar de la actividad antiviral a un tiempo de exposición de 40 minutos de *Cinchona officinalis* L “quina verde”, Ayacucho 2020.

Descriptivos

UFP_40

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
2,5	4	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	0,00	0,00
1,25	4	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	0,00	0,00
0,63	4	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	0,00	0,00
0,32	4	3,7500	2,50000	1,25000	-,2281	7,7281	0,00	5,00
0,16	4	5,0000	0,00000	0,00000	5,0000	5,0000	5,00	5,00
0,08	4	40,0000	4,08248	2,04124	33,5039	46,4961	35,00	45,00
0	4	180,0000	0,00000	0,00000	180,0000	180,0000	180,00	180,00
Total	28	32,6786	62,75293	11,85919	8,3455	57,0116	0,00	180,00

ANEXO 29. Análisis de varianza de la actividad antiviral de *Cinchona officinalis* L “quina verde” a un tiempo de exposición de 40 minutos, Ayacucho 2020.

ANOVA

UFP_40

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	106255,357	6	17709,22 6	5409,36 4	2,3 x 10 ⁻³³
Dentro de grupos	68,750	21	3,274		
Total	106324,107	27			

ANEXO 30. Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antiviral *Cinchona officinalis* L “quina verde” a un tiempo de exposición de 40 minutos, Ayacucho 2020

UFP_40

Factor_UF P	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
2,5	4	0,0000			
1,25	4	0,0000			
0,63	4	0,0000			
0,32	4		3,750 0		
0,16	4		5,000 0		
0,08	4			40,000 0	
0	4				180,000 0
Sig.		1,000	,340	1,000	1,000

ANEXO 31. Media y desviación estándar de la actividad antiviral a un tiempo de exposición de 80 minutos de *Cinchona officinalis* L “quina verde”, Ayacucho 2020.

Descriptivos

UFP_80								
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
2,5	4	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	0,00	0,00
1,25	4	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	0,00	0,00
0,63	4	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	0,00	0,00
0,32	4	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	0,00	0,00
0,16	4	8,7500	4,78714	2,39357	1,1326	16,3674	5,00	15,00
0,08	4	27,5000	6,45497	3,22749	17,2287	37,7713	20,00	35,00
0	4	180,0000	0,00000	0,00000	180,0000	180,0000	180,00	180,00
Total	28	30,8929	62,77611	11,86357	6,5508	55,2349	0,00	180,00

ANEXO 32. Análisis de varianza de la actividad antiviral de *Cinchona officinalis* L “quina verde” a un tiempo de exposición de 80 minutos, Ayacucho 2020.

ANOVA

UFP_80

	Suma de cuadrados	g l	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	106208,92 9	6	17701,48 8	1918,61 3	1,2 x 10 ⁻²⁷
Dentro de grupos	193,750	2 1	9,226		
Total	106402,67 9	2 7			

ANEXO 33. Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antiviral *Cinchona officinalis* L “quina verde” a un tiempo de exposición de 80 minutos, Ayacucho 2020

UFP_80

Duncan ^a		Subconjunto para alfa = 0.05			
Factor_UF	N	1	2	3	4
2,5	4	0,0000			
1,25	4	0,0000			
0,63	4	0,0000			
0,32	4	0,0000			
0,16	4		8,7500		
0,08	4			27,5000	
0,00	4				180,0000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

ANEXO 34. Media y desviación estándar de la actividad antiviral a un tiempo de exposición de 10, 20, 40 y 80 minutos de *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020.

		Descriptivos							
		N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mín	Máx
						Límite inferior	Límite superior		
C_1_25_r	10	4	3,7500	2,50000	1,25000	-,2281	7,7281	,00	5,00
	20	4	6,2500	4,78714	2,39357	-1,3674	13,8674	,00	10,00
	40	4	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
	80	4	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
	Total	16	2,5000	3,65148	,91287	,5543	4,4457	,00	10,00
C_0_63_r	10	4	3,7500	2,50000	1,25000	-,2281	7,7281	,00	5,00
	20	4	6,2500	4,78714	2,39357	-1,3674	13,8674	,00	10,00
	40	4	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
	80	4	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
	Total	16	2,5000	3,65148	,91287	,5543	4,4457	,00	10,00
C_0_32_r	10	4	6,2500	2,50000	1,25000	2,2719	10,2281	5,00	10,00
	20	4	16,2500	4,78714	2,39357	8,6326	23,8674	10,00	20,00
	40	4	31,2500	7,50000	3,75000	19,3158	43,1842	25,00	40,00
	80	4	8,7500	2,50000	1,25000	4,7719	12,7281	5,00	10,00
	Total	16	15,6250	10,93542	2,73385	9,7979	21,4521	5,00	40,00
C_0_16_r	10	4	35,0000	7,07107	3,53553	23,7484	46,2516	25,00	40,00
	20	4	18,7500	7,50000	3,75000	6,8158	30,6842	10,00	25,00
	40	4	25,0000	4,08248	2,04124	18,5039	31,4961	20,00	30,00
	80	4	23,7500	2,50000	1,25000	19,7719	27,7281	20,00	25,00
	Total	16	25,6250	7,93200	1,98300	21,3983	29,8517	10,00	40,00
C_0_08_r	10	4	31,2500	4,78714	2,39357	23,6326	38,8674	25,00	35,00
	20	4	38,7500	2,50000	1,25000	34,7719	42,7281	35,00	40,00
	40	4	45,0000	7,07107	3,53553	33,7484	56,2516	35,00	50,00
	80	4	37,5000	6,45497	3,22749	27,2287	47,7713	30,00	45,00
	Total	16	38,1250	7,04154	1,76039	34,3728	41,8772	25,00	50,00

ANEXO 35. Análisis de varianza de la actividad antiviral de *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja”, Ayacucho 2020.

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
C_1_25 _r	Entre grupos	112,500	3	37,500	5,143	,016
	Dentro de grupos	87,500	12	7,292		
	Total	200,000	15			
C_0_63 _r	Entre grupos	112,500	3	37,500	5,143	,016
	Dentro de grupos	87,500	12	7,292		
	Total	200,000	15			
C_0_32 _r	Entre grupos	1518,750	3	506,250	22,091	,000
	Dentro de grupos	275,000	12	22,917		
	Total	1793,750	15			
C_0_16 _r	Entre grupos	556,250	3	185,417	5,742	,011
	Dentro de grupos	387,500	12	32,292		
	Total	943,750	15			
C_0_08 _r	Entre grupos	381,250	3	127,083	4,207	,030
	Dentro de grupos	362,500	12	30,208		
	Total	743,750	15			

ANEXO 36. Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antiviral *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja” a un tiempo de exposición de 10 y 20 minutos, Ayacucho 2020.

UFP_10_r						
Factor_UFP	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
2,5	4	,0000				
1,25	4	3,7500	3,7500			
0,63	4		3,7500			
0,32	4			6,2500		
0,08	4			31,2500		
	4			0		
0,16	4				35,0000	
0	4					180,0000
Sig.		,180	,367	,158	1,000	1,000

UFP_20_r						
Factor_UFP	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
2,5	4	,0000				
1,25	4	6,2500	6,2500			
0,63	4		7,5000			
0,32	4			16,2500		
	4			0		
0,16	4			18,7500		
	4			0		
0,08	4				38,7500	
	4				0	
0	4					180,0000
Sig.		,056	,690	,427	1,000	1,000

ANEXO 37. Prueba de Duncan de comparaciones múltiples de la actividad antiviral *Cinchona pubescens* Vahl “quina roja” a un tiempo de exposición de 40 y 80 minutos, Ayacucho 2020.

		UFP_40_r				
Factor_UFP	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
2,5	4	,0000				
1,25	4	,0000				
0,63	4	,0000				
0,16	4		25,000 0			
0,32	4			31,250 0		
0,08	4				45,000 0	
0	4					180,000 0
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

		UFP_80_r				
Factor_UFP	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
2,5	4	,0000				
1,25	4	,0000				
0,63	4	,0000				
0,32	4		8,7500			
0,16	4			23,750 0		
0,08	4				37,500 0	
0	4					180,000 0
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

ANEXO 38:

Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	MARCO TEÓRICO	VARIABLE	METODOLOGÍA
Actividad antioxidante y antiviral del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género <i>Cinchona</i> del distrito de Samugari - Ayacucho 2020.	¿Tendrá actividad antioxidante y antiviral el extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género <i>Cinchona</i> del distrito de Samugari - Ayacucho 2020?	<p>General: Determinar la actividad antioxidante y antiviral del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género <i>Cinchona</i>.</p> <p>Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Identificar los metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género <i>Cinchona</i>. ● Evaluar la actividad antioxidante de los extractos mediante ensayos in vitro, DPPH y ABTS. ● Evaluar la actividad antiviral de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de dos especies del género <i>Cinchona</i> utilizando bacteriófagos como modelo enteroviral. 	<p>Hi: El extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género <i>Cinchona</i> presentan actividad antioxidante y antiviral.</p> <p>Ho: El extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género <i>Cinchona</i> no presentan actividad antioxidante y antiviral.</p>	<p>- Clasificación taxonómica de <i>Cinchona</i>.</p> <p>- Metabolitos secundarios.</p> <p>- Radical libre.</p> <p>- Formación de radicales libres.</p> <p>- Estrés oxidativo.</p> <p>- Antioxidante.</p> <p>- Ensayos para evaluar la actividad antioxidante.</p> <p>- Bacteriófago.</p> <p>- Ensayo celular para evaluar la actividad antiviral.</p>	<p>-Variable independiente: Extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género <i>Cinchona</i>.</p> <p>-Indicador: Extracto de 100, 200,400 y 600 mg.</p> <p>-Variable dependiente: Actividad antioxidante y antiviral</p> <p>-Indicador: Porcentaje de captación o secuestro de radicales libres. Formación de calvas o UFP</p>	<p>Nivel de investigación. Experimental</p> <p>Población: Hojas secas de dos especies del género <i>Cinchona</i> que pertenecen al distrito de Samugari.</p> <p>Muestra. 500 gramos de las hojas de dos especies del género <i>Cinchona</i>.</p> <p>Métodos: Poder de captación de radicales por método DPPH y ABTS.</p> <p>Estándar: Trolox 25, 50, 100, 150, 200 y 250 µg/mL</p> <p>Análisis de datos: Los resultados serán presentados en gráficos, tablas y figuras, estos datos serán vaciados al programa estadístico SPSS mediante la prueba estadística de T student, ANOVA y Duncan.</p> <p>Para la capacidad antioxidante se realizara un diseño experimental al azar con 4 repeticiones con significancia P menor 0.05.</p> <p>Para la evaluación de supervivencia del bacteriófago al azar considerando 2 factores; la concentración de extracto (0,25; 1,25; 0,63; 0,32; 0,16; 0,08 y 0 mg/ml) y el tiempo de contacto del fago (10, 20, 40 y 80 min), se utilizó ANOVA y la prueba de DUNCAN.</p>



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

El que suscribe docente instructor responsable de verificar y controlar la originalidad de los trabajos de tesis en segunda instancia de la Facultad de Ciencias de la Salud, deja constancia que el trabajo de tesis titulado:

Actividad antioxidante y antiviral del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género Cinchona del distrito de Samugari - Ayacucho 2020.

Autor: MIGUEL YUPANQUI, Mitza

Asesor(a) : Dr. Emilio German RAMIREZ ROCA

Ha sido verificado y sometido al análisis CON DEPOSITO mediante el sistema TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **25 % de similitud**.

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 17 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga es procedente conceder la Constancia de Originalidad con Deposito.

Ayacucho, 25 de enero de 2022.

Firmado
digitalmente por
Dr. Emilio G.
Ramírez Roca
Fecha: 2022.01.25
16:53:07 -05'00'

Dr. Emilio Ramírez Roca
RESPONSABLE



UNSCH

**FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**DOCENTES INSTRUCTORES
DEL SOFTWARE ANTIPLAGIO**



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD PRIMERA INSTANCIA DE TRABAJO DE TESIS

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° 068 – 2021 – UNSCH – FCSA/D de fecha 30 de abril de 2021, deja constancia que el trabajo de tesis titulado:

“Actividad antioxidante y antiviral del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género *Cinchona* del distrito de Samugari - Ayacucho 2020”

Autor: Mitza MIGUEL YUPANQUI

Asesor(es): Profesor(es) Emilio Germán RAMÍREZ ROCA y José ALARCÓN GUERRERO

Ha sido sometido al análisis del sistema antiplagio TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **25 % 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, 25 de enero de 2022



Firmado digitalmente por:
AGUILAR FELICES ENRIQUE
JAVIER
Motivo: Soy el autor del
documento
Fecha: 25/01/2022 10:47:29-0500

Mg. Enrique Javier AGUILAR FELICES
Docente – Instructor

Actividad antioxidante y
antiviral del extracto
hidroalcohólico de las hojas de
dos especies del género
Cinchona del distrito de
Samugari - Ayacucho 2020

por Mitza Miguel Yupanqui

Fecha de entrega: 25-ene-2022 04:31p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1748123082

Nombre del archivo: BORRADORA_TESIS._MITZA.pdf (2.97M)

Total de palabras: 19775

Total de caracteres: 99108

Actividad antioxidante y antiviral del extracto hidroalcohólico de las hojas de dos especies del género Cinchona del distrito de Samugari - Ayacucho 2020

INFORME DE ORIGINALIDAD

25%

INDICE DE SIMILITUD

25%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

7%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	12%
2	dspace.ups.edu.ec Fuente de Internet	2%
3	www.repositorioinstitucional.uson.mx Fuente de Internet	1%
4	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	1%
5	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	aprenderly.com Fuente de Internet	1%
7	www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet	1%
8	repositorio.ug.edu.ec Fuente de Internet	1%

9	repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	1 %
10	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	1 %
11	www.indecopi.gob.pe Fuente de Internet	1 %
12	repository.unad.edu.co Fuente de Internet	<1 %
13	Submitted to ESIC Business & Marketing School Trabajo del estudiante	<1 %
14	edoc.pub Fuente de Internet	<1 %
15	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
16	repositorio.unjfsc.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
17	www.rmu.org.uy Fuente de Internet	<1 %
18	repositorio.utp.edu.co Fuente de Internet	<1 %
19	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	<1 %

20	repositorio.unsaac.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
21	vbook.pub Fuente de Internet	<1 %
22	www.cjf.gob.mx Fuente de Internet	<1 %
23	123dok.co Fuente de Internet	<1 %
24	riubu.ubu.es Fuente de Internet	<1 %
25	www.scielo.org.co Fuente de Internet	<1 %
26	cienciaunemi.unemi.edu.ec Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 30 words