

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**Perfil químico y potencial antioxidante *in vitro* de las hojas  
de *Brachyotum naudinii* Triana**

Tesis para optar el título profesional de:  
**Químico Farmacéutico**

Presentado por:  
**Bach. Eder Cusinga Solano**

Asesor:  
**Dr. Marco Rolando Aronés Jara**

**Ayacucho - Perú**

**2024**

A mis padres, hermanos y amigos por su constante apoyo en este proceso.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco profundamente a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por abrirme las puertas de sus aulas y permitirme formarme profesionalmente en su prestigioso recinto. Mi gratitud se extiende a la Facultad de Ciencias de la Salud y la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, así como a su distinguido cuerpo docente, cuya reconocida trayectoria profesional ha sido fundamental para brindarme los conocimientos esenciales durante mi formación.

Expreso mi sincero agradecimiento al Dr. Q.F. Marco Rolando ARONÉS JARA y al Ing. Jesús PANIAGUA SEGOVIA por su invaluable colaboración y asesoramiento en el desarrollo de mi tesis.

Finalmente, agradezco a todos los que me apoyaron y orientaron, facilitando mi camino hasta alcanzar esta etapa de mi vida.

## ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes	5
2.2. Base teórica	8
2.2.1. <i>Brachyotum naudinni</i> Triana	8
2.2.2. Metabolitos secundarios de las plantas	9
2.2.3. Radicales libres	12
2.2.4. Antioxidantes	13
2.2.5. Medición de la capacidad antioxidante	13
2.2.6. Relación estructura – actividad de los metabolitos de las plantas	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. Lugar de ejecución	15
3.2. Definición de la población y muestra	15
3.2.1. Población	15
3.2.2. Muestra	15
3.3. Métodos instrumentales para la recolección de datos	15
3.4. Procedimiento para la recolección de datos	15
3.4.1. Preparación de la muestra vegetal	15
3.4.2. Obtención del extracto metanólico	16
3.4.3. Obtención de las fracciones del extracto metanólico	16
3.4.4. Identificación de metabolitos secundarios	16
3.4.5. Determinación del perfil químico	16
3.4.6. Cuantificación de fenoles totales	17
3.4.7. Cuantificación de flavonoides	17

3.4.8. Determinación de la actividad antioxidante	18
3.5. Análisis estadístico	19
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	29
VI. CONCLUSIONES	37
VII. RECOMENDACIONES	39
BIBLIOGRAFÍA	41
ANEXOS	47

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
<b>Tabla 1.</b> Metabolitos presentes en las hojas de <i>Brachyotum naudinni</i> Triana.	23
<b>Tabla 2.</b> Perfil químico de las hojas de <i>Brachyotum naudinni</i> Triana por cromatografía líquida acoplada a detector de masas.	24
<b>Tabla 3.</b> Actividad antioxidante de las hojas de <i>Brachyotum naudinni</i> Triana.	26

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Estructura básica de los flavonoides.	11
<b>Figura 2.</b> Contenido de fenoles totales y flavonoides de las hojas de <i>Brachyotum naudinni</i> Triana.	25
<b>Figura 3.</b> Concentración eficiente antioxidante de las hojas de <i>Brachyotum naudinni</i> Triana.	27

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Página</b>
<b>Anexo 1.</b> Certificado de identificación taxonómica de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	49
<b>Anexo 2.</b> Fotografía de las hojas y flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	50
<b>Anexo 3.</b> Flujograma de obtención del extracto y las fracciones de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	51
<b>Anexo 4.</b> Protocolo para la cuantificación de fenoles totales.	52
<b>Anexo 5.</b> Protocolo para la cuantificación del contenido de flavonoides.	53
<b>Anexo 6.</b> Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante mediante el método DPPH.	54
<b>Anexo 7.</b> Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante mediante el método ABTS.	55
<b>Anexo 8.</b> Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante mediante el método FRAP.	56
<b>Anexo 9.</b> Curva de calibración del ácido gálico para la determinación del contenido de fenoles totales.	57
<b>Anexo 10.</b> Curva de calibración de la rutina para la cuantificación del contenido de flavonoides.	58
<b>Anexo 11.</b> Curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante según el método DPPH.	59
<b>Anexo 12.</b> Datos descriptivos, prueba de homogeneidad de varianzas, análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de la cuantificación de fenoles totales.	60
<b>Anexo 13.</b> Datos descriptivos, prueba de homogeneidad de varianzas, análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de la cuantificación de flavonoides.	61
<b>Anexo 14.</b> Resultados del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	62
<b>Anexo 15.</b> Datos descriptivos, prueba de homogeneidad de varianzas, análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de la actividad antioxidante mediante el método DPPH.	63

<b>Anexo 16.</b>	Datos descriptivos, prueba de homogeneidad de varianzas, análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de la actividad antioxidante mediante el método ABTS <sup>•+</sup> .	65
<b>Anexo 17.</b>	Datos descriptivos, prueba de homogeneidad de varianzas, análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de la actividad antioxidante mediante el método FRAP.	67
<b>Anexo 18.</b>	Datos descriptivos, prueba de homogeneidad de varianzas, análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de la concentración eficiente antioxidante mediante los métodos DPPH, ABTS <sup>•+</sup> y FRAP de las hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	69
<b>Anexo 19.</b>	Elaboración de la curva de calibración para la cuantificación del contenido de fenoles totales.	71
<b>Anexo 20.</b>	Cuantificación de fenoles totales en hojas de <i>Brachyotum naudinii</i>	72
<b>Anexo 21.</b>	Elaboración de la curva de calibración de rutina para la cuantificación de flavonoides.	73
<b>Anexo 22.</b>	Cuantificación de flavonoides en hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	74
<b>Anexo 23.</b>	Determinación de la actividad antioxidante por el método <i>in vitro</i> DPPH de Trolox	75
<b>Anexo 24.</b>	Diluciones del extracto y las fracciones de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana, para la determinación de la actividad antioxidante mediante el método DPPH.	76
<b>Anexo 25.</b>	Diluciones del ABTS <sup>•+</sup> para realizar la curva de calibración del Trolox.	77
<b>Anexo 26.</b>	Matriz de consistencia: Perfil químico y potencial antioxidante de las hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	78

## RESUMEN

*Brachyotum naudinii* Triana es una especie nativa de la región de Ayacucho en Perú y diversos estudios han evidenciado su potencial antioxidante *in vitro* relacionado a su contenido de compuestos fenólicos. Este estudio tiene por objetivo determinar el perfil químico y el potencial antioxidante de las hojas de *Brachyotum naudinii*. El material vegetal se recolectó de los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca en Perú. Se obtuvo un extracto metanólico y fraccionado con hexano, acetato de etilo y metanol. El perfil químico se caracterizó mediante LC MS/MS; mientras que el contenido fenólico (TPC) se cuantificó con el método de Folin-Ciocalteu, y el de flavonoides (TFC) con tricloruro de aluminio, expresándose en miligramos equivalentes a ácido gálico (mg GAE/g) y a rutina (mg RuE/g), respectivamente. El potencial antioxidante se evaluó mediante los métodos de DPPH, ABTS<sup>•+</sup> y FRAP y se expresó como actividad antioxidante y concentración eficiente antioxidante (CE50). Se identificaron veinticuatro compuestos químicos entre ácidos orgánicos, fenoles, flavonoides y mayoritariamente taninos y derivados polifenólicos (elagitaninos). Las hojas presentaron un mayor TPC en el extracto metanólico (496,3 ± 2,75 mg GAE/g), así como un mayor TFC (100,99 ± 0,67 mg RuE/g). Las hojas exhibieron actividad antioxidante *in vitro*, manifestando valores de CE50 superiores al Trolox ( $p < 0,05$ ), según los métodos DPPH y ABTS<sup>•+</sup>; sin embargo, presentaron valores inferiores cuando se empleó el método FRAP. Se concluye que las hojas de *Brachyotum naudinii* contienen compuestos químicos, destacando los elagitaninos, siendo los principales responsables de su potencial antioxidante.

**Palabras clave:** *Brachyotum naudinii*, compuestos fenólicos, LC MS/MS, actividad antioxidante, elagitaninos.



## ABSTRACT

*Brachyotum naudinii* Triana is a species native to the Ayacucho region in Peru and various studies have shown its antioxidant potential in vitro related to its content of phenolic compounds. This study aims to determine the chemical profile and antioxidant potential of *Brachyotum naudinii* leaves. The plant material was collected from rock outcrops of the Huaraca Stone Forest in Peru. A methanolic extract was obtained and fractionated with hexane, ethyl acetate and methanol. The chemical profile was characterized by LC MS/MS; while the phenolic content (TPC) was quantified with the Folin-Ciocalteu method, and the flavonoid content (TFC) with aluminum trichloride, expressed in milligrams equivalent to gallic acid (mg GAE/g) and rutin (mg RuE/g), respectively. The antioxidant potential was evaluated using the DPPH, ABTS<sup>•+</sup> and FRAP methods and was expressed as antioxidant activity and efficient antioxidant concentration (EC50). Twenty-four chemical compounds were identified among organic acids, phenols, flavonoids and mostly tannins and polyphenolic derivatives (ellagitannins). The leaves presented a higher TPC in the methanolic extract ( $496.3 \pm 2.75$  mg GAE/g), as well as a higher TFC ( $100.99 \pm 0.67$  mg RuE/g). The leaves exhibited antioxidant activity in vitro, showing EC50 values higher than Trolox ( $p < 0.05$ ), according to the DPPH and ABTS<sup>•+</sup> methods; However, they presented lower values when the FRAP method was used. It is concluded that the leaves of *Brachyotum naudinii* contain chemical compounds, highlighting ellagitannins, which are mainly responsible for its antioxidant potential.

**Keywords:** *Brachyotum naudinii*, phenolic compounds, LC MS/MS, antioxidant activity, ellagitannins.



## I. INTRODUCCIÓN

La familia Melastomataceae comprende entre 4200 y 4500 especies, las cuales exhiben una amplia diversidad de hábitats. Esta familia se distribuye de manera pantropical, abarcando una vasta gama de ubicaciones a nivel mundial. La familia tiene una marcada concentración de especies en el Nuevo Mundo, donde hay 2950 especies. Debido a la complejidad taxonómica, se continúan investigando su filogenética y clasificación,<sup>1</sup> y aunque se ha aislado una gran cantidad de compuestos, sólo unas pocas especies se han estudiado en profundidad.<sup>2</sup>

Los componentes predominantes de esta familia incluyen terpenoides, fenoles simples, quinonas, lignanos y sus glucósidos, flavonoides y antocianinas aciladas. Además, cuenta con una extensa variedad de taninos o polifenoles, destacando principalmente los oligómeros de taninos hidrolizables con pesos moleculares que alcanzan hasta los 4600 Da. Los taninos que se encuentran en varias plantas de este grupo pueden ser responsables de las aplicaciones medicinales tradicionales, especialmente en Asia y América Latina.<sup>2</sup>

*Brachyotum naudinii* Triana, una especie endémica del Perú perteneciente a la familia Melastomataceae,<sup>3</sup> se distingue por formar arbustos usualmente multitallo, adornados con pequeñas hojas que presentan tres nervios marcados. Sus flores, pendulares y llamativas, exhiben tonalidades de rojo y morado, añadiendo un distintivo visual a esta planta.<sup>4</sup> Se distribuye por el norte, centro y sureste del Perú, en las zonas altoandinas entre los 2700-4500 msnm, muchas veces en lugares inhóspitos y sometidos a heladas.<sup>4</sup>

*Brachyotum naudinii* se utiliza para aliviar el dolor de estómago y la circulación sanguínea.<sup>3,5</sup> Tiene potencial ornamental por sus flores vistosas y son polinizadas por los picaflores;<sup>4</sup> además, de sus hojas se obtiene un colorante natural amarillo.<sup>6</sup>

Investigaciones iniciales han revelado la presencia de compuestos como quinonas, flavonoides, cardiotónicos, fenoles y/o taninos, saponinas, triterpenos y/o esteroides y cumarinas en las hojas de *Brachyotum naudinii*; además, se ha establecido que sus flores contienen antocianinas<sup>7-10</sup> Asimismo, se ha determinado que las hojas y las flores poseen un potencial antioxidante *in vitro* debido a su importante contenido de compuestos fenólicos.<sup>10</sup>

Otros estudios han evidenciado que las hojas de *Brachyotum naudinii*, presentan propiedades antimicrobianas frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*;<sup>11</sup> asimismo, se ha demostrado que son extremadamente tóxicos frente a *Artemia salina*.<sup>12</sup>

*Brachyotum naudinii* es una de las especies más abundantes que crece en los lechos de los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca en la región de Ayacucho en Perú. Los afloramientos rocosos son ecosistemas poco perturbados y estudiados, que contribuyen a la biodiversidad, ya que el área circundante posee una vegetación única. Las especies que la conforman han evolucionado frente a condiciones geográficas hostiles y adversas, que les ha permitido desarrollar mecanismos fisiológicos adaptativos, que incluyen la producción de metabolitos secundarios.<sup>13</sup>

Es por ello, que se pretende indagar la composición química de las hojas de *Brachyotum naudinii*, mediante cromatografía líquida acoplada a detector de masas. Al respecto, la implementación de detectores de masas en conjunto con equipos de cromatografía líquida de alta eficiencia, junto con el avance en técnicas de cromatografía de ultra alta eficiencia, ha potenciado significativamente la habilidad para detectar e identificar una amplia gama de compuestos individuales dentro de matrices de alta complejidad, tales como alimentos y plantas medicinales.<sup>14</sup>

Además, este estudio investigará el potencial antioxidante *in vitro* de las hojas de *Brachyotum naudinii*, empleando radicales libres estables y coloreados como el 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), el ácido 2,2-azino-bis-(3-étilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS), y el complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina (FRAP).<sup>15</sup> Estas técnicas facilitarán una clasificación preliminar de esta especie vegetal basada en su capacidad antioxidante. Además, se ha demostrado que la capacidad antioxidante se encuentra directamente relacionada con la concentración de compuestos fenólicos en una especie vegetal.<sup>14</sup>

Por las consideraciones expuestas en esta investigación se planteó los siguientes objetivos:

**Objetivo general**

Determinar el perfil químico y el potencial antioxidante de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana.

**Objetivos específicos**

- Identificar los metabolitos secundarios en las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana.
- Identificar los compuestos químicos de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana mediante cromatografía líquida de ultra-alta performance acoplada a espectrometría de masas (LC-MSMS).
- Evaluar el contenido de fenoles totales en el extracto metanólico de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana y en sus fracciones hexánica, de acetato de etilo y metanólica.
- Evaluar el contenido de flavonoides en el extracto metanólico de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana y en sus fracciones hexánica, de acetato de etilo y metanólica.
- Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto metanólico de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana y de sus fracciones hexánica, de acetato de etilo y metanólica.



## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

En 2023, **Ortiz**<sup>9</sup> publicó su tesis, centrada en determinar las antocianinas, la actividad antioxidante y fotoprotectora en flores de *Brachyotum naudinii* Triana. Utilizó técnicas como pruebas de coloración a la gota, barrido espectral, y cromatografía líquida de ultra-alta eficiencia (UHPLC) acoplada a espectrometría de masas para identificar los compuestos químicos en las flores liofilizadas. El extracto seco hidroalcohólico se obtuvo mediante extracción acelerada usando etanol al 70° acidificado con ácido cítrico a pH 3,18 y secado por aspersion. La cuantificación de antocianinas totales (TAC) y fenoles totales (TFC) se realizó a través de los métodos de pH diferencial y Folin-Ciocalteu, respectivamente. La actividad antioxidante se evaluó con el ensayo DPPH y la fotoprotección solar *in vitro* mediante el método de Mansur. Los hallazgos revelaron tres nuevas antocianinas no identificadas previamente en las flores, con un TAC de  $1148,6 \pm 59,9$  g/100 g y un TFC de  $194,84 \pm 4,07$  mg GAE/g. A una concentración de 100 µg/mL, la actividad antioxidante fue del  $49,2 \pm 0,7$  %, con una concentración media inhibitoria de  $66,4 \pm 0,9$  µg/mL y un factor de protección solar *in vitro* de 1,7. Concluyó que, si bien el extracto hidroalcohólico de las flores mostró una significativa actividad antioxidante debido a las antocianinas, su potencial fotoprotector solar *in vitro* fue limitado.

**Aronés et al.**,<sup>10</sup> el 2022 publicaron un estudio con el fin de llevar a cabo un tamizaje fitoquímico, determinar la cantidad de compuestos fenólicos y evaluar la capacidad antioxidante de trece especies de plantas medicinales encontradas en los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca en Perú. A través del análisis fitoquímico se logró identificar una variedad de metabolitos secundarios y se cuantificaron los fenoles totales (TPC), flavonoides (TFC) y antocianinas (TAC). La evaluación del potencial antioxidante de los extractos hidroalcohólicos se efectuó

midiendo la concentración inhibitoria media (CI50) y la actividad antioxidante a 100 µg/mL mediante el método DPPH. Los resultados indicaron la existencia de flavonoides, fenoles y/o taninos en todas las especies examinadas. De manera particular, el extracto de hojas de *Brachyotum naudinii* resaltó por su elevado TPC ( $386,3 \pm 9,7$  mg GAE/g) y una significativa capacidad antioxidante (CI50 de  $42,9 \pm 1,2$  µg/mL), aunque mostró diferencias estadísticas en comparación con el Trolox ( $36,6 \pm 0,4$  µg/mL). Además, el extracto de hojas de *Mutisia mathewsii* presentó el mayor TFC ( $175,6 \pm 0,7$  mg RUE/g) y el extracto de frutos de *Gaultheria glomerata*, el más alto TAC ( $2340,0 \pm 2,26$  mg/g). El estudio concluyó que las trece plantas medicinales investigadas, que son ricas en flavonoides, fenoles y/o taninos, demuestran un potencial antioxidante directamente proporcional a su contenido de fenoles totales.

**Torres**,<sup>8</sup> el 2018, divulgó un estudio que investigó los compuestos fenólicos, flavonoides y la capacidad antioxidante en las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana, las cuales se recolectaron en Huaraca, un sector de Vinchos en la provincia de Huamanga, Ayacucho. Para identificar los metabolitos, se emplearon pruebas de gota. La capacidad antioxidante fue medida mediante métodos espectrofotométricos, incluyendo los análisis DPPH, ABTS y FRAP. La medición de fenoles y flavonoides se realizó con el método de Folin-Ciocateu y tricloruro de aluminio, respectivamente. Se encontraron componentes como taninos hidrolizables, flavonoides, saponinas, catequinas, cumarinas, quinonas y azúcares reductores, con niveles de fenoles y flavonoides totales de 396,8 mg GAE/g y 30,5 mg RuE/g, respectivamente. Las concentraciones inhibitorias medias (CI50) para DPPH, ABTS y FRAP fueron 42,9; 136,2 y 38,2 µg/mL, respectivamente. El estudio concluyó que las hojas de esta planta presentan una destacada actividad antioxidante, similar a la del estándar Trolox

**Palomino**,<sup>7</sup> el 2018, difundió un estudio que investigó los niveles de fenoles totales, antocianinas y la capacidad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana, recolectadas en Huaraca, a una altitud de 3800 metros en el distrito de Vinchos, provincia de Huamanga en Ayacucho. Los resultados indicaron que el extracto atomizado contiene principalmente flavonoides, taninos, antocianinas, cumarinas, compuestos cardiotónicos, quinonas y saponinas. Este extracto se distingue por su tonalidad fucsia, aroma característico y sabor ácido, además de su apariencia de polvo fino. Los fenoles totales en las flores fue de 216,0 mg GAE/g y antocianinas de 75,47 mg/100 g de cianidina. La evaluación de la

actividad antioxidante a través de los ensayos DPPH, ABTS<sup>++</sup> y FRAP reveló concentraciones inhibitorias del extracto de  $80,6 \pm 0,85 \mu\text{g/mL}$ ,  $244,6 \pm 3,93 \mu\text{g/mL}$  y  $64,8 \pm 3,09 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente. El estudio concluye que el extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana posee potentes compuestos bioactivos con destacadas propiedades antioxidantes.

**Bussmann et al.**<sup>12</sup>, el 2011, reportaron el estudio que tuvo como objetivo evaluar la toxicidad potencial de plantas medicinales usadas en la medicina tradicional en el norte del Perú. La toxicidad de extractos etanólicos y acuosos de 341 especies de plantas se determinó mediante un ensayo de camarones en salmuera. Entre sus resultados, halló que el 24,0 % de las especies en el extracto acuoso y el 76,0 % de las especies en el extracto alcohólico mostraron niveles elevados de toxicidad para los camarones en salmuera. Aunque en la mayoría de los casos múltiples extractos de la misma especie mostraron valores de toxicidad muy similares, en algunos casos la toxicidad de diferentes extractos de la misma especie varió desde no tóxica hasta altamente tóxica. Respecto a *Brachyotum naudinii*, determinó que su concentración letal 50 para el extracto acuoso fue de  $0,59 \mu\text{g/mL}$  (extremadamente tóxico) y  $202 \mu\text{g/mL}$  para un extracto etanólico (moderadamente tóxico).

**Bussmann et al.**<sup>11</sup> en el 2010, publicaron un estudio destinado a evaluar la concentración mínima inhibidora (CMI) de las propiedades antibacterianas frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, utilizando plantas medicinales reconocidas por sus usos antibacterianos en el norte de Perú, incluida *Brachyotum naudinii*. La evaluación de la actividad antimicrobiana se llevó a cabo en 141 especies de plantas, empleando tanto extractos etanólicos como acuosos, mediante un método de microdilución en caldo para cepas bacterianas de referencia comercial. Los hallazgos mostraron que extractos etanólicos de 51 especies lograron inhibir a *Escherichia coli*, mientras que 114 extractos etanólicos fueron efectivos contra *Staphylococcus aureus*. El extracto etanólico y acuoso de *Brachyotum naudinii* presentaron una concentración mínima inhibitoria de  $16 \text{ mg/mL}$  frente a *Escherichia coli*; asimismo, presentaron una concentración mínima inhibitoria de  $8 \text{ mg/mL}$  para los extractos acuoso y etanólico frente a *Staphylococcus aereus*. Concluyeron que los resultados respaldan la existencia de actividad antibacteriana en la mayoría de las especies tradicionalmente utilizadas en la medicina peruana examinadas en este estudio. No obstante, la concentración mínima inhibidora (CMI) para las especies

evaluadas presentó un rango amplio y, en su mayoría, resultó ser alta. A pesar de esto, el saber tradicional podría ofrecer indicios valiosos para identificar posibles candidatos en la búsqueda y desarrollo de nuevos agentes antibióticos en el futuro.

## **2.2. Base teórica**

### **2.2.1. *Brachyotum naudinii* Triana**

*Brachyotum naudinii* Triana pertenece a la familia melastomataceae y es conocida como “qihwncha”, crece en zonas altoandinas entre 3000-4500 msnm.<sup>4</sup>

#### **2.2.1.1. Clasificación taxonómica**

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Subclase	:	Rosidae
Orden	:	Myrtales
Familia	:	Melastomataceae
Género	:	<i>Brachyotum</i>
Especie	:	<i>Brachyotum naudinii</i> triana
Nombre vulgar	:	“qihwncha”

Fuente: Certificado emitido por la Bióloga Laura Aucasime Medina (Anexo 1).

#### **2.2.1.2. Descripción botánica**

*Brachyotum naudinii* Triana, un miembro de la familia Melastomataceae, es un arbusto que alcanza hasta 1,5 metros de altura y se caracteriza por tener múltiples tallos que emergen desde su base. Posee hojas simples, opuestas y de pequeño tamaño, cubiertas por finos pelillos. Sus flores, que pueden aparecer solas o en pequeños grupos, son notables por su brillante coloración que varía desde rojo intenso hasta morado, destacando por sus corolas grandes y vistosas. Los frutos, de tamaño reducido y forma esférica, presentan tonos que van del rojo oscuro al morado o casi negro, conteniendo en su interior varias semillas minúsculas.<sup>4</sup>

#### **2.2.1.3. Actividad terapéutica**

Las plantas que pertenecen a la familia Melastomatacea desde años atrás, especialmente en Asia y América Latina, se han utilizado como parte de la medicina tradicional, para la disentería, leucorrea, hemorroides, sarna, el pie de atleta, para prevenir el aborto, dolores abdominales posparto, antipirética, diurética, malaria, antirreumática y diversas enfermedades de la piel como la dermatitis. Tal es así que

hacen mención a *Brachyotum strigosum* Triana con uso farmacológico en cálculos de la vejiga y otras dolencias del tracto genitourinario y antibacteriano; del mismo modo las hojas de *Brachyotum figuerorae*; son usadas en forma de baño de vapor para evitar la sensación de frío durante el posparto para evitar que el frío pueda penetrar al cuerpo.<sup>11,16</sup>

#### **2.2.1.4. Composición química**

Estudios previos han reportado en las hojas la presencia de flavonoides, taninos, antocianinas, cumarinas, cardiotónicos, quinonas y saponinas; además las flores contienen antocianinas.<sup>7,8</sup> Estos metabolitos son responsables en su mayoría de los efectos farmacológicos.<sup>11</sup>

#### **2.2.2. Metabolitos secundarios de las plantas**

Las plantas generan una amplia gama de sustancias conocidas como metabolitos secundarios y compuestos bioactivos, que actúan como barreras químicas frente a herbívoros y microorganismos, además de ayudar a su adaptación a condiciones ambientales desafiantes como variaciones en temperatura, humedad y exposición a la radiación solar. Los compuestos bioactivos, en particular, son aquellos que pueden inducir efectos farmacológicos o toxicológicos tanto en humanos como en animales. Entre estos compuestos se incluyen, por ejemplo, los alcaloides, terpenoides y fenoles.<sup>17,18</sup>

##### **2.2.2.1. Saponinas**

Los compuestos bioactivos, identificados predominantemente en plantas, también se hallan en ciertos organismos marinos e insectos. Basándose en la naturaleza química de su aglicona (denominada sapogenina), las saponinas se clasifican en esteroidales y triterpenoides. Las saponinas esteroidales, que son las más comunes en las plantas, se caracterizan por tener estructuras basadas en 27 átomos de carbono, incluyendo tipos como espirostanol y furostanol. Por otro lado, los triterpenoides generalmente poseen agliconas que contienen 30 átomos de carbono.<sup>19</sup> La familia Melastomataceae probablemente presenta saponinas indefinidas.<sup>20</sup>

##### **2.2.2.2. Taninos**

Los taninos constituyen polímeros hidrosolubles de fenoles con un elevado peso molecular. Se distinguen por su rica presencia de grupos hidroxilo fenólicos, lo que facilita su capacidad para formar complejos mayoritariamente con proteínas y en menor medida, con iones de metales, aminoácidos y carbohidratos. Estos

compuestos están presentes en una amplia gama de vegetales, abarcando desde arbustos y árboles utilizados para forraje hasta legumbres, además de encontrarse en frutas, cereales y semillas.<sup>21</sup>

### **2.2.2.3. Compuestos fenólicos**

Son aquellas moléculas que presentan uno o más grupos hidroxilo a un anillo. Su estructura básica es un fenol que se compone de un anillo aromático denominado fenil, que está unido a un grupo hidroxilo (OH). El anillo aromático cumple funciones biológicas importantes y son considerados como potentes antioxidantes muy importantes. La gran mayoría de fenoles presentes en el reino vegetal se clasifican de acuerdo con su grupo funcional, lo cual influye en una serie de atributos distintivos de las plantas, tales como su color y características sensoriales, ejemplificado por la astringencia en ciertas frutas y vegetales. Estos compuestos fenólicos se agrupan en múltiples categorías, entre las que se encuentran los fenoles simples, cumarinas, ácidos fenólicos, xantonas, quinonas, lignanos, ligninas y betacianinas, cada uno con una variedad de efectos y actividades. La familia Melastomataceae presenta en su composición ácidos fenólicos que a su vez le brindan la actividad antioxidante.<sup>22,23</sup>

**a) Fenoles simples.** Se caracterizan por presentar dos o tres grupos hidroxilo unidos al anillo aromático. Presentan actividades antibióticas, antiparasitarias y antioxidantes, por ejemplo, la hidroquinona, el catecol, etc.<sup>23</sup>

**b) Ácidos fenólicos.** Conformados por dos grupos: los derivados del ácido hidroxibenzoico y el ácido hidroxicinámico.<sup>23</sup>

**c) Cumarinas.** Poseen un anillo aromático conectado a un heterociclo que contiene oxígeno, clasificándose dentro de los compuestos fenólicos, especialmente cuando hay un grupo hidroxilo adherido a la estructura de cumarina. Estos compuestos están presentes en una variedad de frutas y verduras, como es el caso de la umbeliferona.<sup>23</sup>

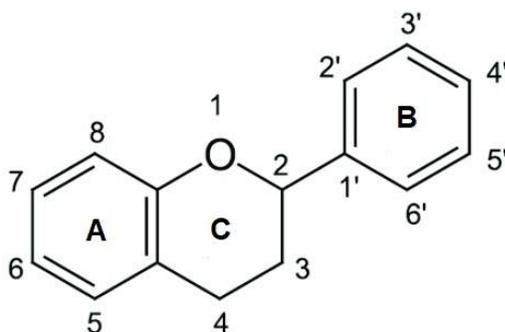
**d) Xantonas, estilbenos y benzofenonas.** Estos compuestos los podemos encontrar de forma natural en algunas plantas, como las xantonas y las benzofenonas, que se pueden acumular en las raíces y frutas exóticas. Los estilbenos fueron hallados en algunas frutas como es el caso de las uvas, su estructura se compone de dos anillos aromáticos unidos por cetona y presenta actividades biológicas como antiinflamatoria (resveratrol) en casos de artritis, enfermedades cardiovasculares y retrasan el envejecimiento.<sup>23</sup>

**e) Quinonas.** Son compuestos que se caracterizan por presentar un anillo diona que está completamente conjugado, por ejemplo, la antraquinona y naftoquinonas.<sup>23</sup>

**f) Lignan y ligninas.** Son compuestos dímeros derivados de fenilalanina y alcoholes cinámicos, que se encuentran presentes en muchos alimentos como son los granos, las hortalizas y las uvas. Los lignanos han demostrado tener actividad antioxidante.<sup>23</sup>

#### 2.2.2.4. Flavonoides

Los flavonoides son compuestos polifenólicos que están formados principalmente por un anillo A y C de benzo-1-pirano-4-quinona y a la vez presenta un anillo B.<sup>21</sup> Estos compuestos están constituidos por quince átomos de carbono y poseen dos anillos aromáticos unidos por una cadena de tres carbonos. Representan el grupo más abundante de compuestos fenólicos en el reino vegetal, presentándose en concentraciones elevadas especialmente en las hojas, específicamente en la epidermis y la cáscara de las frutas.<sup>24</sup> Los flavonoides presentan propiedades antioxidantes,<sup>25</sup> antiinflamatorias,<sup>26,27</sup> antitrombóticas,<sup>27</sup> antimicrobianas,<sup>26</sup> antialérgicas,<sup>28</sup> antitumorales,<sup>26</sup> antiasmáticas<sup>28</sup> y dentro de todas estas actividades biológicas. La propiedad antioxidante ha sido de mayor interés en los estudios.<sup>29</sup>



**Figura 1.** Estructura básica de los flavonoides.<sup>29</sup>

Los principales flavonoides son:

**a) Flavonas.** Son compuestos que derivan de la benzopirona. Como ejemplo podemos mencionar a la luteolina, la apigenina, diosmetina, crisoeriol, tangeretina, sinensetina, gardenin, vitexina y baicaleína.<sup>30</sup>

**b) Flavonoles.** Presentan un grupo hidroxilo. Estos compuestos poseen actividad antiinflamatoria, antiviral, sedativa y presentan un fuerte poder antiséptico. Por ejemplo, la rutina, silimarina, aldehído cinámico, miricetina, robinetina, etc.<sup>30</sup>

**c) Flavanonas.** Estos compuestos se caracterizan por la presencia de un centro quiral en la posición 2 y no presenta el doble enlace en la posición 2 y 3. No son muy abundantes en las plantas con respecto a otras clases de flavonoides y la actividad antioxidante es la más importante. En este grupo tenemos a la hesperetina, taxifolina, eriodictiol y naringenina.<sup>31</sup>

**d) Flavan-3-ol.** Son considerados importantes ingredientes funcionales en muchos alimentos integrales y procesados; así como, en las bebidas, remedios herbales y algunos suplementos. La presencia de estos compuestos puede afectar la calidad de algunos alimentos otorgándoles amargura, astringencia, acidez, dulzura, viscosidad, etc. Ejemplo de estos flavonoides son la catequina y epicatequina.<sup>31</sup>

**e) Isoflavonas.** En este caso el anillo B del fenilcromano se encuentra asociada a la posición 3 en lugar de la posición 2 como en el caso de los otros flavonoides. Estos compuestos mayormente se encuentran en la familia Leguminosae, como en la soya. En este grupo tenemos a la genisteína, daidzeína y coumestrol.<sup>31</sup>

**f) Antocianidinas.** Son compuestos hidrosolubles de origen natural que brindan el color a las frutas, flores, verduras y plantas; dando una coloración que va de rojo, morado o azulado según el pH que presenta. Por ejemplo, tenemos a la cianidina, delphinidina, pelargonidina y peonidina.<sup>31</sup>

**g) Alcaloides.** Representan a los compuestos heterocíclicos nitrogenados que son derivados principalmente de los aminoácidos. Aproximadamente un 25,0 % de las plantas presentan este compuesto (alcaloides) y las podemos encontrar en las flores, hojas, semillas, frutos, corteza; etc.<sup>32</sup> Son compuestos tóxicos y tienen actividad farmacológica a dosis muy bajas.<sup>33,34</sup>

### **2.2.3. Radicales libres**

Consisten en átomos o grupos de átomos que poseen un electrón no apareado, lo que los convierte en entidades altamente reactivas capaces de sustraer un electrón de una molécula estable para lograr equilibrio electrónico, desencadenando así una serie de reacciones en cadena. A pesar de tener una vida media de solo microsegundos, tienen la facultad de interactuar con todas las sustancias cercanas, provocando daños a nivel molecular, así como en las membranas celulares y los tejidos.<sup>35</sup>

#### 2.2.4. Antioxidantes

Son sistemas de defensa que cumplen el papel de contrarrestar el efecto nocivo de los radicales libres. Pueden ser secuestradores químicos y previenen el daño oxidativo.<sup>36</sup> Los antioxidantes, a su vez se pueden clasificar en endógenos y exógenos; todos actúan potenciándose para neutralizar las diversas formas del oxígeno, dando lugar una serie de antioxidantes. Los antioxidantes tienen la capacidad de neutralizar las especies reactivas en medios hidrofílicos e hidrofóbicos.<sup>37,38</sup>

Los antioxidante pueden ser exógenos, tales como:

- **Alfa tocoferol (vitamina E).** Son compuestos que, neutralizan al oxígeno singlete ( $^1O_2$ ), capturan los radicales libres del hidroxilo ( $OH^*$ ) y neutralizan los peróxidos ( $O_2$ ).<sup>35,38</sup>
- **Beta-carotenos.** Estos compuestos tienen la labor de neutralizar al oxígeno singlete ( $^1O_2$ ).<sup>35,38</sup>
- **Ascorbato (vitamina C).** Son responsables de neutralizar al oxígeno singlete, captura radicales libres del hidroxilo y regenera la forma oxidada de la vitamina E.<sup>35,38</sup>

Entre los antioxidantes endógenos tenemos:

- **Catalasas.** Tiene dos funciones como catalítica y peroxidativa; actúan cuando hay existencia de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno.<sup>35,38</sup>
- **Superóxido dismutasa.** Estas enzimas son las que dismutan al oxígeno cuya función principal es la protección contra el anión superóxido.<sup>35,38</sup>
- **Glutati3n peroxidasa.** Es una enzima dependiente del selenio y su funci3n de esta es catalizar la reducci3n del peróxido de hidrógeno a lipoperóxido.<sup>35,38</sup>

#### 2.2.5. Medici3n de la capacidad antioxidante

En la actualidad existe un gran inter3s por los efectos biol3gicos de las plantas. As3, se han desarrollado diferentes m3todos para la cuantificaci3n de la actividad antioxidante de los extractos.<sup>35,38</sup> Los m3todos que mayormente son usados el de DPPH (1,1 difenil-2-picrilhidrazil), ABTS (2,2-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-3cido sulf3nico) y FRAP (Poder antioxidante reductor de hierro).<sup>39</sup>

### **2.2.6. Relación estructura – actividad de los metabolitos de las plantas**

Las plantas además de realizar el metabolismo primario suelen realizar el metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de diversa naturaleza química. La relación estructura – actividad es un aspecto muy importante de la química medicinal en la actualidad ya que establece la relación que existe entre la estructura química y la actividad biológica; es así que en la actualidad se lograron registrar estudios relacionados a este tema ya que aún muchas afecciones requieren de fármacos mejores y nuevos.<sup>40,41</sup>

Es relevante destacar que la estructura de los flavonoides juega un papel crucial en su capacidad para ejercer actividad biológica. Por ejemplo, la configuración molecular específica puede intensificar su actividad antioxidante. Esto incluye la disposición de grupos dihidroxilo en orientación orto en los anillos, como en el caso de la catequina, quercetina y luteolina. Además, la disposición meta de grupos hidroxilo en los carbonos 5 y 7 del anillo, presente en compuestos como la apigenina y el kaempferol, así como la existencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, acompañado de grupos 4-ceto y 3-hidroxilo en el anillo C, como se observa en la quercetina, son estructuras significativas. Específicamente, los flavonoides con grupos dihidroxilo en las posiciones 3' y 4' del anillo B muestran una actividad antioxidante superior, gracias a la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo OH en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4.<sup>42</sup>

Comprender la estructura de los compuestos fenólicos requiere inicialmente familiarizarse con la estructura del fenol, la cual constituye la unidad básica compuesta por un anillo fenil (aromático) acoplado a un grupo hidroxilo (OH). Este anillo aromático desempeña un papel crucial en las propiedades antioxidantes de la molécula.<sup>23</sup>

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Lugar de ejecución**

Esta investigación se llevó a cabo en los laboratorios del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF), perteneciente a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga

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

##### **3.2.1. Población**

Hojas de *Brachyotum naudinni* Triana, recolectadas en la comunidad de Huaraca, distrito de Vinchos, Provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, ubicada a 3800 msnm.

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

Un kilogramo de hojas frescas de *Brachyotum naudinni* Triana recolectada en la comunidad de Huaraca, distrito de Vinchos, Provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

#### **3.3. Métodos instrumentales para la recolección de datos**

La obtención de los extractos se realizó con un extractor acelerado por solventes Dionex™ ASE 150 (ASE).<sup>43</sup> Para determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides y potencial antioxidante se empleó la espectrofotometría UV-VIS (GENESYS ISO/THERMO SCIENTIFIC 150); mientras que, para determinar el perfil químico se hizo uso de la cromatografía líquida acoplada a masas. La concentración de extracto se realizó en rotavapor Buchi R-3000.

#### **3.4. Procedimiento para la recolección de datos**

##### **3.4.1. Preparación de la muestra vegetal**

Las hojas recolectadas fueron separadas de los tallos con una previa limpieza y se acondicionó en papel Kraft. El secado se realizó en un ambiente ventilado a

temperatura ambiente hasta obtener un secado uniforme. Las hojas secas se molieron en un molinillo de cuchillas hasta obtener un polvo fino de 180  $\mu\text{m}$  de tamaño, que fueron conservados en frasco de vidrio ámbar hasta su análisis.<sup>44</sup>

#### **3.4.2. Obtención del extracto metanólico**

Se mezcló 20 g de las hojas pulverizadas con 10 g de tierra de diatomeas y se acondicionó en una celda de 100 mL de acero inoxidable provista de una celda de celulosa. La extracción se realizó usando metanol. Los parámetros de extracción del método fueron: tiempo estático de 10 minutos, temperatura 65 °C, 3 ciclos estáticos y tiempo de purga de 160 segundos.<sup>43</sup> Se obtuvo 8 g de extracto metanólico de color verde oscuro que fue concentrado en un rotavapor y secado en una estufa a 40 °C.

#### **3.4.3. Obtención de las fracciones del extracto metanólico**

Se mezcló 1,5 g del extracto metanólico con 3,5 g de tierra de diatomeas y se dispersó hasta homogeneizar. La mezcla se acondicionó a una celda de 10 mL en el ASE. Los parámetros de extracción fueron: tiempo estático 5 minutos, temperatura 40 °C, 5 ciclos estáticos y 160 segundo de tiempo de purga.<sup>43</sup> Luego se realizó una primera extracción con hexano que fue concentrado en un rotavapor Buchi R-3000 y el secado se completó en una estufa a 40 °C, obteniendo la fracción hexánica.

El residuo de la fracción hexánica fue mezclada con tierra de diatomeas y se procedió a una extracción con acetato de etilo bajo las mismas condiciones que la obtención de la fracción hexánica. De igual manera, el residuo de la fracción de acetato de etilo se sometió a una extracción con metanol hasta obtener la fracción metanólica.

#### **3.4.4. Identificación de metabolitos secundarios**

La identificación de los diferentes compuestos químicos de los extractos y fracciones se realizó mediante reacciones de precipitación, coloración y formación de espuma. Todos los ensayos fueron realizadas siguiendo los procedimientos descritos por Lock de Ugaz.<sup>45</sup>

#### **3.4.5. Determinación del perfil químico**

Las muestras se analizaron en un cromatógrafo líquido de alta eficiencia (HPLC) modelo Agilent Infinity 1260 acoplado a un espectrómetro de masas de alta resolución Agilent® modelo 6520 B (Q-TOF) con fuente de ionización por electropulverización (ESI). Los parámetros cromatográficos fueron: columna Agilent Poroshell C18 (50,0 mm x 2,1 mm x 2,7  $\mu\text{m}$ ); la fase móvil: agua desionizada acidificada con ácido fórmico (0,1% v/v) (A) y metanol grado HPLC (B); gradiente: 10% B (0 min), 98% B (0-10 min)

y 98% B (10-17 min) con un caudal de 0,4 mL.min<sup>-1</sup>. Se inyectó en el cromatógrafo un volumen de 3 µL de la muestra a una concentración de 2,0 mg/mL. Los parámetros de ionización en ambas condiciones: presión del nebulizador de 25 psi, flujo de inyección de 8 L.min<sup>-1</sup>, gas secante a una temperatura de 220 °C y energía de 4,5 kV en el capilar. Se realizaron análisis de espectrometría de masas secuencial (MS/MS) a diferentes energías de colisión (5-30 eV) para los modos positivo y negativo para cada ion molecular.

#### **3.4.6. Cuantificación de fenoles totales**

La cuantificación de fenoles totales se realizó haciendo uso del reactivo de Folin-Ciocalteu.<sup>15</sup> Se preparó la solución de ácido gálico a una concentración de 800 µg/mL a partir del cual se prepararon diluciones de 20, 40 y 80 y 120 µg/mL. Para la cuantificación se midió 100 µL de cada solución y se añadió 500 µL de reactivo Folin-Ciocalteu (1:10) y 400 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 7,5 %. La mezcla reposó por 30 minutos en oscuridad, posteriormente se midió la absorbancia a una longitud de onda de 765 nm contra un blanco de reacción.

Para la cuantificación de fenoles totales en las muestras se preparó soluciones de 500 µg/mL y se procedió de la misma manera que el ácido gálico. Las muestras se realizaron por triplicado. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mg GAE/g).

#### **3.4.7. Cuantificación de flavonoides**

La cuantificación de flavonoides se realizó por el método del tricloruro de aluminio.<sup>15</sup> Se preparó una solución de rutina de 40 µg/mL a partir del cual se prepararon diluciones de 8; 12; 16 y 20 µg/mL. Para la cuantificación se midió una alícuota de las diluciones y se mezclaron con 0,5 mL de tricloruro de aluminio y metanol cantidad suficiente para 5 mL. La mezcla se dejó reposar por un periodo de 30 minutos y medieron las absorbancias contra un blanco de reacción a una longitud de onda de 420 nm. Las lecturas se realizaron por triplicado.

Para la cuantificación de flavonoides en las muestras se prepararon soluciones a concentraciones de 500 µg/mL y se procedió de la misma manera que la rutina. Las muestras se analizaron por triplicado. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de rutina por gramo de extracto seco (mg RuE/g).

### 3.4.8. Determinación de la actividad antioxidante

#### 3.4.8.1. Método del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

Se preparó una solución de DPPH diluido en metanol de 40 µg/mL a partir de cual se prepararon diluciones de 5, 10, 15, 20, 25; 30 y 35 µg/mL, para construir una curva de calibración de DPPH, con el que se calculó la concentración remanente de DPPH por efecto de las muestras y el Trolox.<sup>15,46</sup>

Se preparó una solución de Trolox a una concentración de 500 µg/mL en metanol a partir del cual se prepararon diluciones de 25, 50, 75 y 100 µg/mL. Para la cuantificación de la captación del radical DPPH, se midió 0,3 mL de las diluciones y se añadió 2,7 mL de la solución de DPPH. Se homogenizó la mezcla y se dejó reposar por 30 minutos. Se midió las absorbancias a 515 nm contra un blanco de reacción.<sup>15</sup> Se prepararon muestras en concentraciones de 25; 50; 75 y 100 µg/mL en metanol y se procedió de igual manera que el Trolox. La actividad antioxidante se expresó como porcentaje de actividad antioxidante (%AA) calculada según la ecuación:

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

Donde  $A_c$  es la absorbancia del control;  $A_m$  la absorbancia de la muestra;  $A_b$  absorbancia del blanco.

La actividad antioxidante también se expresó como concentración eficiente antioxidante (CE50) calculada a partir de la ecuación polinómica de grado 2 ( $y = a.x^2 - b.x + c$ ) de la concentración remanente de DPPH en función a la concentración de las muestras y/o Trolox.<sup>47</sup>

#### 3.4.8.2. Método del 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6 sulfónico) (ABTS<sup>•+</sup>)

Se preparó una solución de radical ABTS<sup>•+</sup> con valor de absorbancia  $0,70 \pm 0,02$  a 734 nm.<sup>15</sup> Se preparó una solución de Trolox a una concentración de 500 µg/mL en metanol a partir del cual se prepararon diluciones de 25, 50, 100 y 150 µg/mL. Para la cuantificación de la captación del radical ABTS<sup>•+</sup> se midió 20 µL de las diluciones y se adicionó 980 µL de ABTS<sup>•+</sup>. La mezcla se dejó reposar por 7 minutos y se midió la absorbancia a 734 nm.<sup>15</sup>

Se prepararon muestras en concentraciones de 25, 50, 100 y 150 µg/mL en metanol y se procedió de igual manera que el Trolox. La actividad antioxidante se expresó como porcentaje de actividad antioxidante (%AA) calculada según la ecuación:

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

Donde  $A_c$  es la absorbancia del control;  $A_m$  la absorbancia de la muestra;  $A_b$  absorbancia del blanco.

La actividad antioxidante también se expresó como concentración eficiente antioxidante (CE50) calculada a partir de la ecuación lineal ( $y = b \cdot x + a$ ) del porcentaje de actividad antioxidante en función a la concentración de las muestras y/o Trolox.<sup>10</sup>

#### **3.4.8.3 Método poder reductor antioxidante férrico (FRAP)**

Se preparó el reactivo de FRAP mezclando 25 mL de tampón acetato 0,3 mM con 2,5 mL de 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine 10 mM preparado en HCl 40 mM y 2,5 mL de  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  20 mM. El reactivo de FRAP se mantuvo en baño maría a 37 °C durante el ensayo.<sup>15</sup>

Se prepararon diluciones de las muestras y/o Trolox a concentraciones de 25 a 150  $\mu\text{g/mL}$  en metanol a partir de una solución de 500  $\mu\text{g/mL}$ . Para la evaluación del poder reductor se midieron alícuotas de 20  $\mu\text{L}$  de cada dilución y se adicionó 980  $\mu\text{L}$  de reactivo FRAP y se dejó reposar por 30 minutos. Se midió la absorbancia a 593 nm, calibrando el espectrofotómetro con el blanco (20  $\mu\text{L}$  de agua, 980  $\mu\text{L}$  de reactivo FRAP).<sup>15</sup>

La actividad antioxidante se expresó como porcentaje de actividad antioxidante (%AA) calculada según la ecuación:

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

Donde  $A_c$  es la absorbancia del control;  $A_m$  la absorbancia de la muestra;  $A_b$  absorbancia del blanco.

La actividad antioxidante también se expresó como concentración eficiente antioxidante (CE50) calculada a partir de la ecuación logarítmica ( $y = b \cdot \ln(x) + a$ ) del porcentaje de actividad antioxidante en función a la concentración de las muestras y/o Trolox.<sup>10</sup>

#### **3.5. Análisis estadístico**

Los datos fueron procesados por Microsoft Excel y SPSS 20.0. Los resultados se expresaron como promedios y error estándar de la media de tres repeticiones. Se midió a homocedasticidad de los datos con la prueba de Levene. Se identificó diferencias significativas con la prueba de Análisis de Varianza. Se realizó

comparaciones múltiples con la prueba de Tukey. Se utilizó un nivel de confianza del 95,0 % para las pruebas estadísticas.

## IV. RESULTADOS

**Tabla 1.** Metabolitos presentes en las hojas de *Brachyotum naudinni* Triana.

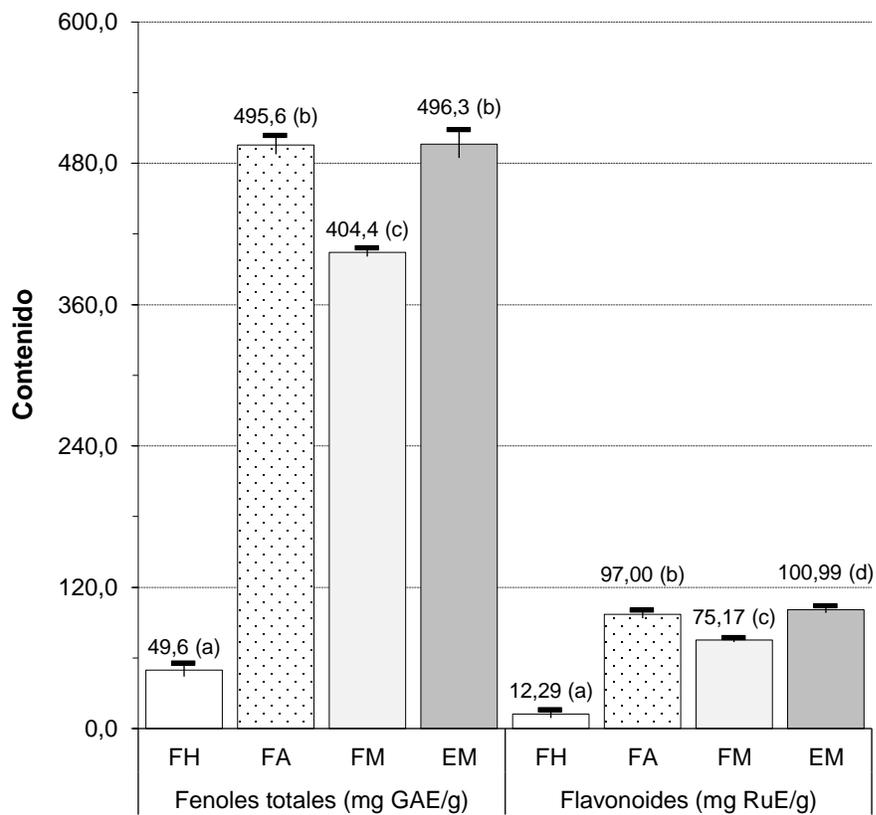
Metabolitos y ensayos	Extracto metanólica	Fracción		
		Hexánica	Acetato de etilo	Metanólica
• Triterpenos/esteroides Liebermann-Burchad	+	+	+	+
• Quinonas Borntrager	+	-	+	+
• Flavonoides Shinoda	+	-	+	+
• Lactonas y/o cumarinas Baljet	+	-	+	+
• Glicósidos cardiotónicos Kedde	+	-	+	+
• Fenoles y/o taninos Cloruro férrico	+	-	+	+
• Alcaloides Dragendorff	-	-	-	-
Mayer	-	-	-	-
Wagner	-	-	-	-
• Azúcares reductores Fehling	-	-	-	-
• Aminoácidos libres Ninhidrina	-	-	-	-
• Saponinas Ensayo de espuma	-	-	-	-

Nota: (+) presencia: (-) ausencia

**Tabla 2.** Perfil químico de las hojas de *Brachyotum naudinni* Triana mediante cromatografía líquida acoplada a detector de masas.

N°	tR (min)	[M-H] <sup>-</sup>	[M+H] <sup>+</sup>	Masa exacta	Fórmula molecular	Estructura tentativa	Muestra	Referencia
1	0,40	341,1090	-	341,1089	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	Sacarosa	FA, FM, EM	Abu-Reidah et al. (2015) (I)
2	0,47	133,0142	-	113,0142	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	Ácido málico	FH, FA, FM, EM	Abu-Reidah et al. (2015) (I)
3	0,47	191,0199	-	191,0197	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	Ácido cítrico o ácido isocítrico	FA, FM, EM	Metlin; Abu-Reidah et al. (2015) (I)
4	0,47	147,0454	-	173,0455	C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> O <sub>5</sub>	Ácido shikímico	FA, FM, EM	Fernández-Arroyo et al. (2010)
5	0,62	331,0673	-	331,0671	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>10</sub>	Galoil-hexosa	FA, FM, EM	Abu-Reidah et al. (2015) (II); Leng et al. (2022)
6	0,77	169,0140	-	169,0142	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	Ácido gálico	FA, FM, EM	Metlin; Sun et al. (2007)
7	0,77	783,0683	-	783,0686	C <sub>34</sub> H <sub>24</sub> O <sub>22</sub>	Bis-HHDP hexosa*	FA, FM, EM	Quatrin et al. (2019)
8	0,77	633,0740	-	633,0733	C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>18</sub>	HHDP-galoil-hexosa I*	FA, FM, EM	Quatrin et al. (2019)
9	1,09	331,0671	-	331,0671	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>10</sub>	Galoilhexosa II	FA, FM, EM	Abu-Reidah et al. (2015) (II); Leng et al. (2022)
10	1,09	783,0693	-	783,0686	C <sub>34</sub> H <sub>24</sub> O <sub>22</sub>	Bis-HHDP hexosa*	FA, FM, EM	Quatrin et al. (2019); Mohsen et al. (2020)
11	1,09	633,0730	-	633,0733	C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>18</sub>	HHDP-galoil-hexosa I*	FA, FM, EM	Quatrin et al. (2019); Mohsen et al. (2020)
12	2,51	935,0796	-	935,0796	C <sub>41</sub> H <sub>28</sub> O <sub>26</sub>	Bis-HHDP-galoil-hexosa I*	FA, FM, EM	Glaserapp et al. (2019); Quatrin et al. (2019); Mohsen et al. (2020)
13	-	935,0776	-	935,0796	C <sub>41</sub> H <sub>28</sub> O <sub>26</sub>	Bis-HHDP-galoil-hexosa II*	FA, FM, EM	Glaserapp et al. (2019); Quatrin et al. (2019); Mohsen et al. (2020)
14	4,12	935,0797	-	935,0797	C <sub>41</sub> H <sub>28</sub> O <sub>26</sub>	Bis-HHDP-galoil-hexosa III*	FA, FM, EM	Glaserapp et al. (2019); Quatrin et al. (2019)
15	5,72	479,0837	481,0979	479,0831 4665,1028	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>	Mircetina-O-glucósido	FA, FM, EM	Abu-Reidah et al. (2015) (I); Hofmann; Nebehaj; Albert (2016)
16	6,17	463,0889	465,1024	463,0882 465,1028	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	Mircetina-O-ramnósido (miricitrin)	FA, FM, EM	Metlin, Hofmann; Nebehaj; Albert (2016), Karar; Kuhnert (2020); Abu-Reidah et al. (2015) (II)
17	6,38	300,9992	-	300,9990	C <sub>14</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub>	Ácido elágico	FA, FM, EM	Hofmann; Nebehaj; Albert (2016); Mekan et al. (2019); Abu-Reidah et al., 2015 (II)
18	6,38	477,0675	-	477,0675	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>13</sub>	Quercetina-O-glucorónido	FA, FM, EM	Sun et al., 2007; Abu-Reidah et al. (2015) (II); Mekan et al. (2019)
19	6,38	463,0886	465,1026	463,0882 465,1028	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	Quercetina-O-galactósido/ glucósido	FA, FM, EM	Metlin; Karar; Kuhnert (2020)
20	6,71	433,0776	-	473,0776	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	Quercetina-O-pentósido	FA	Quatrin et al. (2019); Abu-Reidah et al. (2015) (II)
21	7,07	447,0931	449,1075	447,0933 449,1078	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	Quercetina-O-ramnósido (quercitrin)	FA, FM, EM	Karar; Kuhnert (2020); Hofmann; Nebehaj; Albert (2016); Silveira et al. (2020); Abu-Reidah et al. (2015) (I)
22	7,45	317,0304	-	317,0303	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>	Mircetina	FA, FM, EM	Abu-Reidah et al. (2015) (II), Sun et al. (2007); Silveira et al. (2020)
23	7,95	301,0356	-	301,0354	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	Quercetina	FH, FA, FM, EM	Abu-Reidah et al. (2015) (II)
24	10,60	-	274,2740	274,2741	C <sub>16</sub> H <sub>35</sub> NO <sub>2</sub>	Hexadecanina	FH, FA, FM, EM	Huang et al. (2016)

HHDP: Ácido hexahidroxidifénico.; -: No obtenido; FH: Fracción hexánica, FA: Fracción de acetato de etilo; FM: Fracción metanólica; EM: Extracto metanólico. \* Elagitánico.



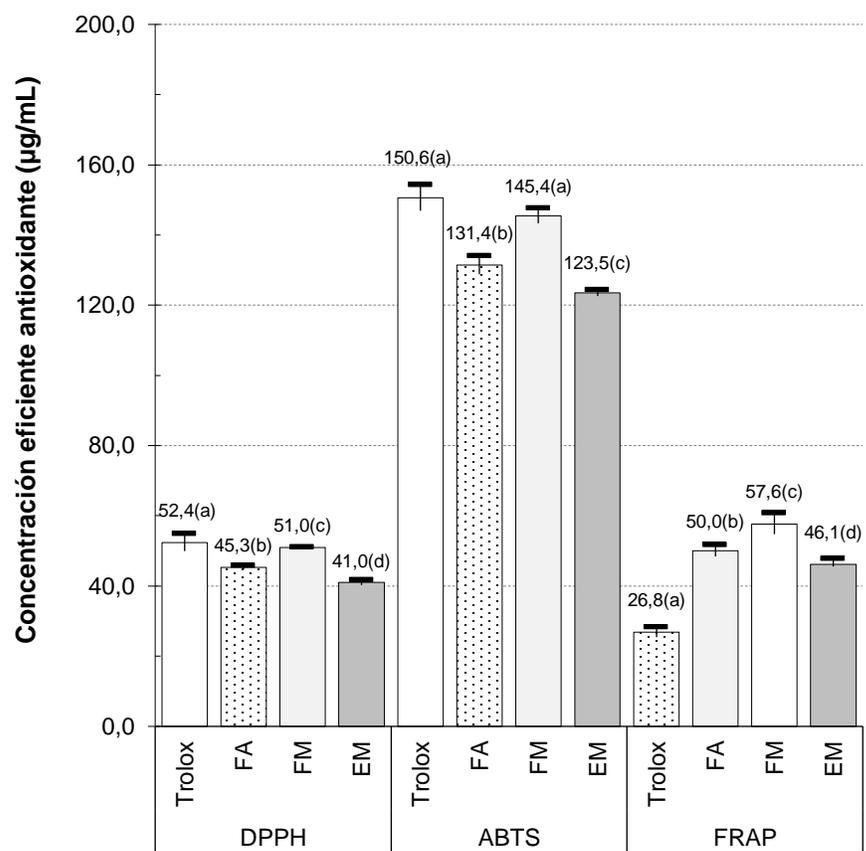
Nota: mg GAE/g: miligramos equivalentes a ácido gálico por gramo de extracto. mg RuE g/g: miligramos equivalentes a rutina por gramo de extracto. Los promedios corresponden a tres repeticiones e incluye el error estándar de la media ( $\pm$ ). Estadístico de Levene ( $\alpha = 0,05$ ): p-valor > 0,05. ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ): p valor < 0,05; Prueba de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ): p-valor > 0,05 (a, b, c y d son subconjuntos homogéneos).

**Figura 2.** Contenido de fenoles totales y flavonoides de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana.

**Tabla 3.** Actividad antioxidante de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana.

Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	Muestra	Actividad antioxidante		
		DPPH	ABTS**	FRAP
25	Fracción de acetato de etilo	28,4 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	9,2 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	34,5 $\pm$ 0,43 <sup>a</sup>
	Fracción metanólica	26,1 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	8,0 $\pm$ 0,51 <sup>a</sup>	32,0 $\pm$ 0,96 <sup>b</sup>
	Extracto metanólico	31,2 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>	8,8 $\pm$ 0,38 <sup>a</sup>	38,0 $\pm$ 0,51 <sup>c</sup>
	Trolox	20,4 $\pm$ 0,47 <sup>d</sup>	9,5 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	46,7 $\pm$ 0,45 <sup>d</sup>
50	Fracción de acetato de etilo	50,8 $\pm$ 0,36 <sup>a</sup>	18,7 $\pm$ 0,71 <sup>a</sup>	49,2 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>
	Fracción metanólica	46,0 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>	17,8 $\pm$ 0,26 <sup>a</sup>	50,0 $\pm$ 0,38 <sup>b</sup>
	Extracto metanólico	55,1 $\pm$ 0,36 <sup>c</sup>	19,4 $\pm$ 0,35 <sup>a</sup>	53,9 $\pm$ 0,26 <sup>c</sup>
	Trolox	43,5 $\pm$ 0,79 <sup>d</sup>	16,5 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>	62,7 $\pm$ 0,39 <sup>d</sup>
75	Fracción de acetato de etilo	70,4 $\pm$ 0,29 <sup>a</sup>	-	-
	Fracción metanólica	65,5 $\pm$ 0,20 <sup>b</sup>	-	-
	Extracto metanólico	75,6 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	-	-
	Trolox	70,9 $\pm$ 0,38 <sup>a</sup>	-	-
100	Fracción de acetato de etilo	85,8 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	38,5 $\pm$ 0,39 <sup>a</sup>	59,8 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>
	Fracción metanólica	82,3 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	32,6 $\pm$ 2,29 <sup>b</sup>	61,0 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>
	Extracto metanólico	91,2 $\pm$ 0,28 <sup>c</sup>	42,4 $\pm$ 1,02 <sup>c</sup>	63,3 $\pm$ 0,22 <sup>c</sup>
	Trolox	91,9 $\pm$ 0,11 <sup>c</sup>	33,5 $\pm$ 0,27 <sup>b</sup>	77,8 $\pm$ 0,09 <sup>d</sup>
150	Fracción de acetato de etilo	-	59,1 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	65,7 $\pm$ 0,18 <sup>a</sup>
	Fracción metanólica	-	52,9 $\pm$ 1,18 <sup>b</sup>	67,1 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>
	Extracto metanólico	-	64,6 $\pm$ 0,35 <sup>c</sup>	68,9 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>
	Trolox	-	47,6 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	84,5 $\pm$ 0,06 <sup>c</sup>

Nota: Los promedios de tres repeticiones e incluye el error estándar de la media ( $\pm$ ). Estadístico de Levene ( $p > 0,05$ ). ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ); Prueba de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ): a, b, c y d son subconjuntos homogéneos.



**Figura 3.** Concentración eficiente antioxidante de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana.

## V. DISCUSIÓN

*Brachyotum naudinii* Triana es una especie nativa que crece en los lechos de los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras en la región de Ayacucho en Perú. Diversos estudios han evidenciado su potencial antioxidante *in vitro* relacionado a su importante contenido de compuestos fenólicos, tanto en hojas como en sus flores.<sup>8-11</sup> Esta especie pertenece a la Familia de las Melastomataceae, cuyas especies han evidenciado un importante contenido de ácidos fenólicos y elagitaninos con reconocida actividad antioxidante, entre otras propiedades biológicas.<sup>2</sup>

Por tales consideraciones, el objetivo del presente estudio fue determinar el perfil químico y el potencial antioxidante de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana. Para ello, se obtuvo un extracto metanólico de las hojas, el cual se fraccionó sucesivamente con hexano, acetato de etilo y metanol, obteniendo una fracción hexánica, fracción de acetato de etilo y una fracción metanólica.

En primer lugar, se identificó los metabolitos mediante reacciones de coloración, precipitación y formación de espuma, en el cual se evidenció la presencia de triterpenos y/o esteroides, tanto en el extracto metanólico y sus fracciones. Asimismo, se identificaron quinonas, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, glicósidos cardiotónicos, fenoles y/o taninos, excepto en la fracción hexánica (Tabla 1).

Un análisis más exhaustivo de la composición química de las hojas de *Brachyotum naudinii* se realizó mediante cromatografía líquida acoplada a detector de masas (LC MS/MS) (Tabla 2). Para el análisis de los resultados de LC-MS/MS se identificó y agrupó los compuestos específicos según sus propiedades químicas, luego se comparó con literatura específica y finalmente se evaluó la significancia biológica. De la agrupación de los compuestos químicos de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana según sus propiedades químicas, se ha identificado la presencia de un azúcar compleja (sacarosa), ácidos orgánicos (ácidos málico, cítrico o isocítrico y shikímico),

fenoles (ácido gálico y ácido elágico), flavonoides y sus glucósidos (mircetina, quercetina, mircetina-O-glucósido, mircetina-O-ramnósido, quercetina-O-glucorónido, quercetina-galactósio/glucósido, quercetina-O-pentósido, quercetina-O-ramnósido) y taninos y derivados polifenólicos (galoil-hexosa, bis-HHDP hexosa, HHDP-galoil-hexosa I, galoilhexosa II, bis-HHDP-galoil-hexosa I, derivado de Bis-HHDPgalloyl-hexosa, bis-HHDP-galoil-hexosa II, bis-HHDP-galoil-hexosa III). Cabe mencionar que el HHDP es el ácido hexahidroxidifénico.

Los compuestos clasificados como taninos y derivados polifenólicos están relacionados directamente con elagitaninos, además se ha identificado su precursor que es el ácido elágico (Tabla 2). Los elagitaninos son un tipo específico de taninos hidrolizables que se caracterizan por la presencia de unidades de ácido elágico (o sus derivados) en su estructura. Se forman a partir de la hidrólisis de taninos galotaninos y son conocidos por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas y anticancerígenas, entre otras actividades biológicas. Los elagitaninos son complejos y pueden transformarse en ácido elágico en el cuerpo, que a su vez es responsable de muchas de sus actividades biológicas observadas.

Del análisis de la composición química de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana (Tabla 2), de los 24 compuestos químicos identificados, 23 compuestos están presentes en el extracto metanólico y en sus fracciones de acetato de etilo y metanol, siendo la quercetina-O-pentósido el único compuesto identificado en la fracción de acetato de etilo. Asimismo, el ácido málico, la quercetina y hexadecasfinganina son los únicos compuestos identificados en la fracción hexánica.

Respecto a la composición química de *Brachyotum naudinii*, se han realizado diversos estudios; sin embargo, los resultados reportados devienen de métodos cualitativos de ensayos a la gota o tamizajes fitoquímicos que usan reacciones de coloración, precipitación o formación de espuma, mediante el cual se ha podido identificar flavonoides, fenoles y/o taninos, saponinas, triterpenos y/o esteroides, quinonas, catequinas, lactonas y/o cumarinas y azúcares reductores.<sup>8,10</sup>

Haciendo un análisis de la composición química de la familia melastomataceae, se ha podido evidenciar en estas especies terpenoides, fenólicos simples, flavonoides, quinonas, lignanos y sus glucósidos, una amplia gama de taninos o polifenoles; así como la propuesta de un mapa de ruta biogenética general para los elagitaninos sobre las bases del acoplamiento oxidativo C-O oxidativa de radicales libres más plausible.<sup>2</sup>

Por ejemplo se ha identificado quercetina en *Tibouchina ciliaris*,<sup>48</sup> isoquercitrina<sup>49</sup> y quercetina 3-(6"-O-caffeoyl)- $\beta$ -D-glucopiranosido y 3-(6"-O-caffeoyl)- $\beta$ -D-galactopiranosido en *Monochaetum multiflorum*;<sup>50</sup> además se ha propuesto que los flavonoides, los glucósidos de flavonoides y los acilglucósidos podrían ser útiles como marcadores quimiotaxonómicos a niveles genéricos y específicos en plantas de la familia melastomatáceas.<sup>2</sup> Asimismo, del extracto metanólico de las hojas de *Miconia cabucu* y *Miconia rubiginosa* se aislaron el dímero de flavona 5-hidroxi-4',7-dimetoxiflavona-(6-C-6")-5"-hidroxi-3"',4"',7"-trimetoxiflavona;<sup>51</sup> además de quercetina-3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(2 $\rightarrow$ 1)-O- $\beta$ -D-xilopiranosido, quercetina-3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosido, miricetina-3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosido, miricetina 3-O-ramnósido, quercetina-3-O- $\beta$ -D-glucopiranosido, kaempferol-3-O- $\beta$ -D-(2",6"-di-O-trans-cumaroil)-glucopiranosido y ácido gálico.<sup>52</sup> De *Tibouchina semidecandra* se han aislado quercetina, miricetina, leucocianidina, leucodelphinidina, quercetina 3-O- $\alpha$ -L-arabinofuranósido e hiperina 6"-O-galato.<sup>53</sup>

Respecto a los ácidos fenólicos de especies de Melastomataceae, se identificaron ácido cafeico en *Clidemia floribunda*,<sup>54</sup> y el ácido elágico se aisló de *Dissotis perkinsiae*.<sup>55</sup>

Los principales constituyentes de las plantas melastomatáceas pertenecen a los taninos hidrolizables. Los taninos hidrolizables monoméricos aislados hasta ahora de especies melastomatáceas están representados por los grupos galotaninos y elagitaninos.<sup>2</sup> Los galotaninos aislados de extracto de acetato de etilo de tallos frescos de *T. semidecandra* incluyen a 1,2,6-tri-O-galoil- $\beta$ -D-glucosa, 1,4,6-tri-O-galoil- $\beta$ -D-glucosa y 1,2,3,6-tetra-O-galoil- $\beta$ -D-glucosa;<sup>53</sup> asimismo, se aislaron ácido gálico 3-O-(6-O-galoil)- $\beta$ -D-glucopiranosido y galato de metilo de *Melastoma dodecandrum*.<sup>56</sup> Otros estudios han informado que *M. malabathricum*<sup>57</sup> y *M. normale*<sup>58</sup> contienen 1,4,6-tri-O-galoil- $\beta$ -D-glucosa y 1,2,4, 6-tetra-O-galoil- $\beta$ -D-glucosa.<sup>2</sup>

A diferencia de los taninos condensados que están muy extendidos en todo el reino vegetal, los elagitaninos se han encontrado sólo en las angiospermas dicotiledóneas. Entre las familias de plantas ricas en elagitaninos se encuentran Myrtaceae, Lythraceae, Onagraceae, Melastomataceae y Combretaceae.<sup>59</sup> La aparición de elagitaninos en esta familia fue sugerida por primera vez por la detección de ácido elágico en *T. semidecandra* mediante un estudio cromatográfico del hidrolizado ácido de los extractos de hojas de varias especies de plantas.<sup>58,60</sup> Así *Medinilla magnifica*

contiene un elagitanino monomérico, la nobotanina D y los dímeros nobotaninas A, B y F, junto con un monómero, medinilina A y un dímero, medinilina B.<sup>60</sup> La investigación continua sobre *T. semidecandra* condujo al aislamiento de taninos monoméricos hidrolizables adicionales, casuarictina, pedunculagina, praecoxina A y B, casuarinina, 2,3-O-(S)-hexahidroxidifenoil-D-glucopiranososa y tres taninos C-glucosídicos identificados como castalagina, vescalagina y 1-O-metilvescalagina.<sup>53</sup> Los elagitaninos triméricos, nobotaninos E y C se aislaron de extractos de hojas de la misma planta.<sup>61</sup>

Estos estudios refuerzan la presencia de flavonoides y sus respectivos glucósidos, los ácidos fenólicos, el ácido elágico, los taninos hidrodizables y los elagitaninos en *Brachyotum naudinii* Triana.

Por otro lado, como parte de los objetivos de esta investigación se planteó cuantificar el contenido de compuestos fenólicos, tales como, fenoles totales y flavonoides; así como evaluar su actividad antioxidante *in vitro* con los métodos del 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), ácido 2,2-azino-bis-(3'-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS), o el complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina (FRAP).

La evaluación de la actividad antioxidante, a través del uso de radicales libres estables coloreados, tales como, DPPH, ABTS<sup>•+</sup>, o TPTZ, permiten jerarquizar preliminarmente las distintas especies vegetales de acuerdo con su actividad antioxidante.<sup>15</sup> Dicha actividad antioxidante se correlaciona proporcionalmente con el contenido de compuestos fenólicos.<sup>14</sup>

En ese contexto, se ha podido establecer que las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana posee un elevado contenido fenoles totales, al ser evaluados por el reactivo de Folin Ciocalteau y que fue calculado a partir de una curva de calibración de ácido gálico ( $y = 0,0095x - 0,0092$ ;  $R = 0,9996$ ) (Anexo 9); asimismo, se determinó que posee un moderado contenido de flavonoides, evaluado con el reactivo de Tricloruro de aluminio y que fue calculado a partir de una curva de calibración de rutina ( $y = 0,0386x + 0,0134$ ;  $R = 0,9988$ ) (Anexo 10). El promedio corresponde a tres repeticiones y se presenta el error estándar de la media que evidencia la precisión de la medición (Figura 2). El contenido mayoritario de fenoles totales se evidenció en el extracto metanólico ( $496,30 \pm 2,75$  mg GAE/g), así como el mayor contenido de flavonoides ( $100,99 \pm 0,67$  mg RuE/g), con valores estadísticamente superiores ( $p < 0,05$ ) (Figura 2). Estos valores ratifican estudios previos, tales como, el reportado por Torres,<sup>8</sup> quien

evidenció un contenido de fenoles de 395,75 mg GAE/g y un contenido de flavonoides de 30,53 mg RuE/g en un extracto hidroalcohólico de *Brachyotum naudinii* Triana. De igual manera Aronés,<sup>10</sup> evidenció un contenido de fenoles totales de  $386,3 \pm 9,7$  mg GAE/g y de flavonoides de  $76,3 \pm 1,3$  mg RuE/g en el extracto hidroalcohólico de hojas de *Brachyotum naudinii* Triana. Estos estudios ya evidenciaban el potencial de esta especie vegetal por lo que se determinó proseguir su estudio.

Respecto al potencial antioxidante, se ha evaluado la actividad antioxidante de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana, tanto en el extracto metanólico, como en su fracción de acetato de etilo y fracción metanólica. No se evaluó la fracción hexánica, debido a que ensayos preliminares reportaron escasa actividad antioxidante. Se usaron los métodos *in vitro* del radical DPPH, ABTS<sup>•+</sup> y FRAP y la actividad antioxidante se expresaron como porcentaje de actividad antioxidante (%AA) y como concentración eficiente antioxidante (CE50). Cabe mencionar que un menor valor de la concentración eficiente antioxidante representa mayor actividad antioxidante.

En este estudio, la actividad antioxidante fue confrontada a diferentes concentraciones de la muestra, los cuales fueron comparadas con el Trolox. En el método de DPPH se evaluó la captación de radicales libres a las concentraciones de 25, 50, 75 y 100 µg/mL, tanto de las muestras como del Trolox, en el que se evidencia que el extracto metanólico presenta mejor captación de radicales libres a las concentraciones de 25 a 75 µg/mL ( $p < 0,05$ ) y a la concentración de 100 µg/mL presenta una captación de radicales libres estadísticamente similar al Trolox. Estos resultados se contrastan con los reportados por Torres<sup>8</sup> y Aronés<sup>10</sup> quienes evidenciaron una extraordinaria actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana, evaluados por el método de DPPH.

En el método del radical ABTS<sup>•+</sup> se evaluó el potencial antioxidante a las concentraciones de 25, 50, 100 y 150 µg/mL del extracto metanólico, la fracción de acetato de etilo, la fracción metanólica y el Trolox. Se evidenció que el extracto metanólico presentó mayor actividad antioxidante ( $p < 0,05$ ) a las concentraciones de 100 y 150 µg/mL, inclusive superior al Trolox ( $p < 0,05$ ); sin embargo, a las concentraciones de 25 y 50 µg/mL la actividad antioxidante fue similar ( $p > 0,05$ ) para todas las muestras incluido el Trolox. Al respecto, Torres,<sup>8</sup> reportó el porcentaje de la actividad antioxidante de un extracto hidroalcohólico de hojas de *Brachyotum*

*naudinii* según el método ABTS<sup>•+</sup>, en el que evidenció un valor de  $33,83 \pm 0,76$  % a  $100 \mu\text{g/mL}$  y de  $57,99 \pm 5,40$  % a  $150 \mu\text{g/mL}$ , valores superados por el extracto metanólico ( $42,4 \pm 1,02$  % y  $64,6 \pm 0,35$  % a  $100$  y  $150 \mu\text{g/mL}$  respectivamente ) y por la fracción de acetato de etilo ( $38,5 \pm 0,39$  y  $59,1 \pm 0,22$  a  $100$  y  $150 \mu\text{g/mL}$  respectivamente) de nuestro estudio.

En el método de poder reductor de hierro (FRAP), se evaluó el potencial antioxidante a las concentraciones de  $25$ ,  $50$ ,  $100$ , y  $150 \mu\text{g/mL}$  del extracto metanólico, la fracción de acetato de etilo, la fracción metanólica y el Trolox. En este caso, se evidenció que todas las muestras presentaron actividad antioxidante menor al Trolox ( $84,5 \pm 0,06$  % a  $150 \mu\text{g/mL}$ ) ( $p < 0,05$ ). Entre las muestras el extracto metanólico presentó mayor actividad antioxidante a todas las concentraciones evaluadas ( $68,9 \pm 0,06$  % a  $150 \mu\text{g/mL}$ ) ( $p < 0,05$ ). Al respecto, Torres,<sup>8</sup> reportó la actividad antioxidante de un extracto hidroalcohólico de hojas de *Brachyotum naudinii* según el método FRAP, en el que evidenció valores de porcentaje de actividad antioxidantes ligeramente superiores ( $81,43 \pm 0,42$  % a  $150 \mu\text{g/mL}$ ), pero que confirman el potencial antioxidante de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana.

En esta investigación la actividad antioxidante también fue expresada como concentración eficiente antioxidante (CE50). Para su interpretación, valores menores de concentración eficiente antioxidante indican mayor actividad antioxidante. Para los métodos de DPPH y ABTS<sup>•+</sup> el extracto metanólico de las hojas de *Brachyotum naudinii* presentó valores de CE50 ( $41,0 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$  y  $123,5 \pm 0,21 \mu\text{g/mL}$  respectivamente) estadísticamente menores ( $p < 0,05$ ) a las fracciones de acetato de etilo, la fracción metanólica e inclusive al Trolox ( $52,4 \pm 0,56 \mu\text{g/mL}$ ), lo que representa una mejor capacidad de captación del radical DPPH y ABTS<sup>•+</sup>. Según el método FRAP las muestras presentaron valores de CE50 estadísticamente mayores al Trolox ( $p < 0,05$ ), aunque valores menores a los reportados por Torres,<sup>10</sup> lo que confirma el potencial reductor de *Brachyotum naudinii*.

Los resultados de este estudio confirman el gran potencial antioxidante de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana dado su composición química, en especial de compuestos fenólicos. Por lo que se recomienda proseguir con más evaluaciones de la actividad antioxidante tanto *in vitro* como en modelos *in vivo* de esta especie vegetal nativa de nuestra región y que se ha adaptado a las condiciones hostiles y peculiares

en los lechos de los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca de la región de Ayacucho en Perú.

## VI. CONCLUSIONES

1. Se identificaron veinticuatro compuestos químicos en las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana entre un azúcar complejo, ácidos orgánicos, fenoles, flavonoides, y mayoritariamente taninos y derivados polifenólicos.
2. El extracto metanólico de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana presenta un importante contenido de fenoles totales ( $496,30 \pm 2,75$  mg GAE/g) y moderado contenido de flavonoides ( $100,99 \pm 0,67$  mg RuE/g).
3. Se evidenció que las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana presentan elevada actividad antioxidante *in vitro* evaluada por los métodos DPPH y ABTS<sup>•+</sup> y FRAP.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios a más profundidad, donde incluya el aislamiento, la caracterización de metabolitos y de las enzimas que estén relacionadas o involucradas en las rutas metabólicas responsables de las actividades biológicas de *Brachyotum naudinii* Triana.
2. Realizar estudios *in vivo*, para que, de esta manera se pueda corroborar la actividad antioxidante de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana.
3. Realizar la extracción de los compuestos con características antioxidantes haciendo uso de otros solventes.
4. Promover a la población la utilidad y el efecto de las propiedades de las plantas nativas tal es el caso de *Brachyotum naudinii* Triana.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Michelangeli FA, Guimaraes PJF, Penneys DS, et al. Phylogenetic relationships and distribution of New World Melastomeae (Melastomataceae). *Bot J Linn Soc* 2013; 171: 38–60.
2. Serna DMO and Martínez JHI. Phenolics and Polyphenolics from Melastomataceae Species. *Molecules* 2015; 20: 17818–17847.
3. Ventura K, Rimayhuamán and Gómez R. *Flora de los paramos de Pacaipampa y Espindola (Ayabaca, Piura)*. Perú, 2012.
4. Reymel C. *Guía identificación de plantas comunes del derecho de vía del ducto de Perú LNG*, 2012.
5. Bussmann RW, Glenn A, Sharon D, et al. Proving that Traditional Knowledge Works: The antibacterial activity of Northern Peruvian medicinal plants. *Ethnobotany Research & Applications* 2011: 1547–3465, <https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/handle/10125/21019> (2011).
6. Gutiérrez Usca Y and Puelles Linares L. *Gutiérrez\_Plantas tintoreas de Urubamba*. Tesis para titulación, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Cusco-Perú, 2012.
7. Palomino Vergara R. *Contenido de fenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de Brachyotum naudinii Triana “qihwncha”, Ayacucho-2018*. Tesis para titulación, Universidad Nacional de San Cistóbal de Huamanga. Ayacucho, 2018.
8. Torres Durand VR. *Contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante de Brachyotum naudinii Triana “qihwncha”, Ayacucho 2018*. Tesis para titulación, Universidad Nacional de San Cistóbal de Huamanga. Ayacucho, 2018.
9. Ortiz Pérez EA. *Contenido de antocianinas, actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de Brachyotum naudinii Triana*. Tesis para titulación, Universidad Nacional de San Cistóbal de Huamanga. Ayacucho, 2023.
10. Aronés-Jara MR, Cárdenas-Landeo E, Luna-Molero HR, et al. Tamizaje fitoquímico, contenido de compuestos fenólicos y potencial antioxidante de trece plantas medicinales de los afloramientos rocosos del Bosque de ... *Revista de la*

*Sociedad Química del Perú* 2022; 88,  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=s1810-634x2022000200165&script=sci\\_arttext&lng=pt](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=s1810-634x2022000200165&script=sci_arttext&lng=pt) (2022).

11. Bussmann RW, Malca-García G, Glenn A, et al. Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru as antibacterial remedies. *Journal of Ethnopharmacology* 2010; 132: 101–108.
12. Bussmann RW, Malca G, Glenn A, et al. Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. *Journal of Ethnopharmacology* 2011; 137: 121–140.
13. Naqinezhad A and Esmailpoor A. Flora and vegetation of rocky outcrops/cliffs near the Hyrcanian forest timberline in the Mazandaran mountains, northern Iran. *Nordic Journal of Botany* 2017; 35: 449–466.
14. Tanase C, Coșarcă S and Muntean D-L. A Critical Review of Phenolic Compounds Extracted from the Bark of Woody Vascular Plants and Their Potential Biological Activity. *Molecules* 2019; 24: 1182, <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/6/1182> (2019).
15. Rivas-Morales C, Oranday-Cárdenas MA and Verde-Star MJ. *Investigación en plantas de importancia médica*: OmniaScience, 2016.
16. Gonzales M, Baldeón S, Beltrán H, et al. Hot and cold: Medicinal plant uses in Quechua speaking communities in the high Andes (Callejón de Huaylas, Ancash, Perú). *Journal of Ethnopharmacology* 2014; 155: 1093–1117.
17. Nishida R. Chemical ecology of insect-plant interactions: Ecological significance of plant secondary metabolites. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 2014; 78: 1–13, DOI: 10.1080/09168451.2014.877836 (2014).
18. Véles M and Campos R & Sánchez H. Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 2014; 17: 489–499, <https://acortar.link/4o0V3y> (2014).
19. Thakur M, Melzig M and Fuchs H & Weng A. Chemistry and pharmacology of saponins: special focus on cytotoxic properties. *Botanics: Targets and Therapy* 2011: 1–19.
20. Chen G, Cheng B, Ai D, et al. Polyanthumin, a novel cyclobutane chalcone trimer from *Memecylon polyanthum*. <http://dx.doi.org/10.1080/10286020.2014.945439> 2015; 17: 170–177.

21. Patra A & Saxena J. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry* 2010; 71: 1198–1222.
22. Ocampo D. & Isaza J. Phenolics and Polyphenolics from Melastomataceae Species. *Molecules* 2015, Vol. 20, Pages 17818-17847 2015; 20: 17818–17847, <https://acortar.link/DBQEtO> (2015).
23. Peñarrieta M, Alvarado A and Åkesson B & Bergenståhl B. Total antioxidant capacity and content of flavonoids and other phenolic compounds in canihua (*Chenopodium pallidicaule*): An Andean pseudocereal. *Molecular Nutrition and Food Research* 2008; 52: 708–717.
24. Crozier A, Jaganath I & Clifford M and Publishing B. Phenols, polyphenols and tannins: an overview. *14051250* 2006, DOI:10.1002/9780470988558.ch1 (2006).
25. Vinson A. Flavonoids in foods as in vitro and in vivo antioxidants. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1998; 439: 151–164, DOI:10.1007/978-1-4615-5335-9\_11 (1998).
26. Russo A, Acquaviva R, Campisi A, et al. Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *Cell Biology and Toxicology* 2000; 16: 91–98, DOI: 10.1023/a:1007685909018 (2000).
27. Pietta P. Flavonoides como antioxidantes. *J. Nat. Prod.* 2000; 63: 1035–1042, DOI: 10.1021/np9904509 (2000).
28. Hirono I. Naturally occurring carcinogens of plant origin toxicology, pathology, and biochemistry. *04449897* 1987: 234, <https://acortar.link/5zZGIZ> (1987).
29. Pérez G. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* 2003; 22: 48–57, <https://acortar.link/YIEPV9> (2003).
30. López T. Flavonoides. *Offarm* 2002; 21: 108–113, <https://acortar.link/oM49Vi> (2002).
31. Corradini E, Foglia P, Giansanti P, et al. Flavonoids: chemical properties and analytical methodologies of identification and quantitation in foods and plants 2011; 25: 469–495.
32. Escobar A. *Caracterización química de alcaloides de género Zephyranthes sp*, <https://acortar.link/ePfDRm>.
33. Sandoval D. & Oquendo M. Estudio fitoquímico preliminar de detección de alcaloides y saponinas en plantas que crecen en Cuba. *Rev. cuba. farm* 1990: 288–296, <https://acortar.link/YD1nWY> (1990).

34. Arango G. *Alcaloides y compuestos nitrogenados*. Medellín, <https://acortar.link/NAEQJw>.
35. Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cubana Med Milit* 2002; 31: 126–159, <https://n9.cl/6rt2x> (2002).
36. Sánchez V and Méndez N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Rev Invest Med Sur Mex, Julio-Septiembre* 2013; 20: 161–168, <https://acortar.link/xXiJll> (2013).
37. Zapata M & Uribe P, G. Balint, Antala B, et al. Oxidación y antioxidantes: hechos y controversias. *97720814* 2013; 7: 343–354, <https://acortar.link/P631SP> (2013).
38. Mora S and Zeledón A & Vargas T. *Estrés oxidativo y antioxidantes: efectos en el embarazo*, <https://acortar.link/zjuiPn>.
39. Herrera O. *Efecto antioxidante y antitumoral in vitro del extracto etanólico de la raíz de Waltheria ovata Cav. "lucraco" en línea celular de cáncer de próstata DU-145*. Lima, <https://acortar.link/jsQvsk>.
40. Cano E. *Relación estructura - actividad de los fármacos y farmacocinética*. México, <https://acortar.link/P0Wfmj>.
41. Ávalos A & Pérez E. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal* 2009; 2: 119–145, <https://acortar.link/4xjyq> (2009).
42. Escamilla C and Cuevas E & Guevara J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Rev Fac Med UNAM* 2009; 52, [www.medigraphic.com](http://www.medigraphic.com) (2009).
43. Barros F, Dykes L, Awika JM, et al. Accelerated solvent extraction of phenolic compounds from sorghum brans. *Journal of Cereal Science* 2013; 58: 305–312.
44. Sharapin N. *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello, 2000.
45. Lock Sing de Ugaz O. *Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales*. 2a. ed. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú, 1994.
46. Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel— Wissenschaft und Technologie*, 1995; 28: 25–30.
47. Sousa, Cleyton Marcos de M., Silva HRe, Vieira-Jr. GM, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quím. Nova* 2007; 30: 351–355.

48. Chan WR, Sheppard V, Medford KA, et al. Triterpenes from *Miconia stenostachya*. *J. Nat. Prod.* 1992; 55: 963–966, <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/np50085a020> (1992).
49. Kaouadji M, Thomasson F, Bennini B, et al. Flavonoid glycosides from *Erica cinerea*. *Phytochemistry* 1992; 31: 2483–2486, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003194229283305i> (1992).
50. Shigematsu N, Kouno I and Kawano N. Quercetin 3-(6"-caffeoylgalactoside) from *Hydrocotyle sibthorpioides*. *Phytochemistry* 1982; 21: 2156–2158, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0031942282830793> (1982).
51. Harborne JB. Plant polyphenols—XI. *Phytochemistry* 1964; 3: 151–160, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942200880358> (1964).
52. Rodrigues J, Rinaldo D, dos Santos LC, et al. An unusual C6–C6" linked flavonoid from *Miconia cabucu* (Melastomataceae). *Phytochemistry* 2007; 68: 1781–1784, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942207002671> (2007).
53. YOSHIDA T, OHBAYASHI H, ISHIHARA K, et al. Tannins and Related Polyphenols of Melastomataceous Plants. I. Hydrolyzable Tannins from *Tibouchina semidecandra* COGN. *Chem. Pharm. Bull.* 1991; 39: 2233–2240, [https://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb1958/39/9/39\\_9\\_2233/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb1958/39/9/39_9_2233/_article/-char/ja/) (1991).
54. Hooi Poay T, Sui Kiong L and Cheng Hock C. Characterisation of galloylated cyanogenic glucosides and hydrolysable tannins from leaves of *Phyllagathis rotundifolia* by LC-ESI-MS/MS. *Phytochemical Analysis* 2011; 22: 516–525.
55. Ndjateu F, Tsafack R, Nganou BK, et al. Antimicrobial and antioxidant activities of extracts and ten compounds from three Cameroonian medicinal plants: *Dissotis perkinsiae* (Melastomaceae), *Adenocarpus mannii* (Fabaceae) and *Barteria fistulosa* (Passifloraceae). *0254-6299* 2014; 91: 37–42, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629913004626> (2014).
56. Ishii R, Saito K, Horie M, et al. Inhibitory effects of hydrolysable tannins from *Melaseoma dodecandrum* Lour. on nitric oxide production by a murine macrophage-like cell line, RAW 264.7, activated with lipopolysaccharide and Interferon- $\gamma$ . *Biol Pharm Bull* 1999; 22: 786–790, <https://cir.nii.ac.jp/crid/1572824500302517120> (1999).

57. YOSHIDA T, Nakata F, Hosotani K, et al. Dimeric hydrolysable tannins from melastoma Malabathricum. *Phytochemistry* 1992; 31: 2829–2833, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003194229283641b> (1992).
58. YOSHIDA T, Arioka H, Fujita T, et al. Monomeric and dimeric hydrolysable tannins from two melastomataceous species. *Phytochemistry* 1994; 37: 863–866, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942200903728> (1994).
59. YOSHIDA T, Amakura Y and Yoshimura M. Structural features and biological properties of ellagitannins in some plant families of the order Myrtales. *International Journal of Molecular Sciences* 2010; 11: 79–106, <https://www.mdpi.com/1422-0067/11/1/79> (2010).
60. Lowry JB. The distribution and potential taxonomic value of alkylated ellagic acids. *Phytochemistry* 1968; 7: 1803–1813, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942200866522> (1968).
61. YOSHIDA T, OHWASHI W, HABA K, et al. Tannins and Related Polyphenols of Melastomataceous Plants. II. Nobotanins B, C and E, Hydrolyzable Tannin Dimer and Trimers from Tibouchina Semidecandra COGN. *Chem. Pharm. Bull.* 1991; 39: 2264–2270, [https://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb1958/39/9/39\\_9\\_2264/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb1958/39/9/39_9_2264/_article/-char/ja/) (1991).

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Certificado de identificación taxonómica de *Brachyotum naudinii* Triana.



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

C E R T I F I C A

Que, el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fito medicamentos "Marco A. Garrido Malo", ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	MYRTALES
FAMILIA	:	MELASTOMATACEAE
GENERO	:	Brachyotum
ESPECIE	:	<b><i>Brachyotum naudinii</i> Triana.</b>
N.V.	:	"qihwncha"

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

Ayacucho, 2 de Junio del 2017

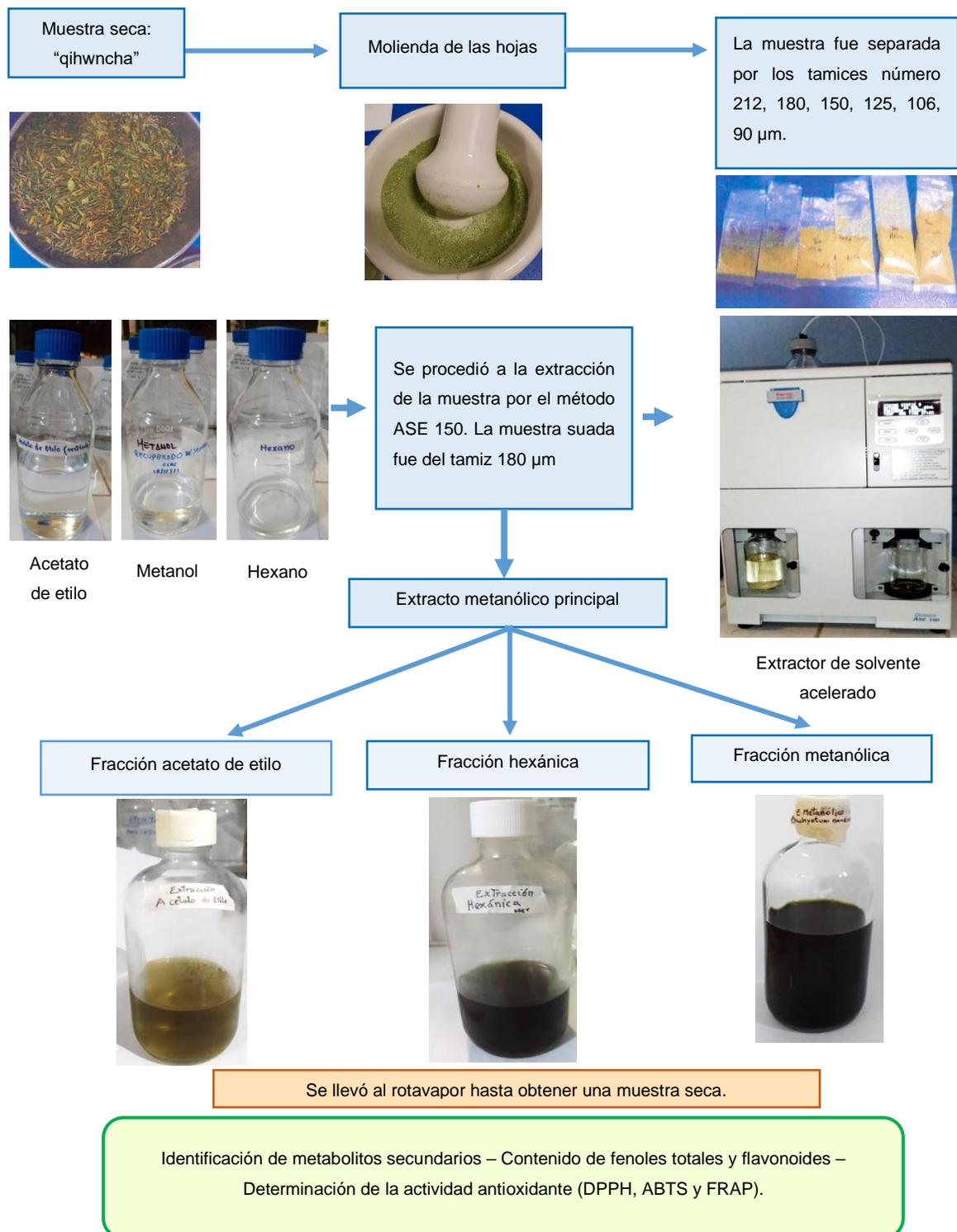
UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
  
JEFE

**Anexo 2.** Fotografía de las hojas y flores de *Brachyotum naudinii* Triana.

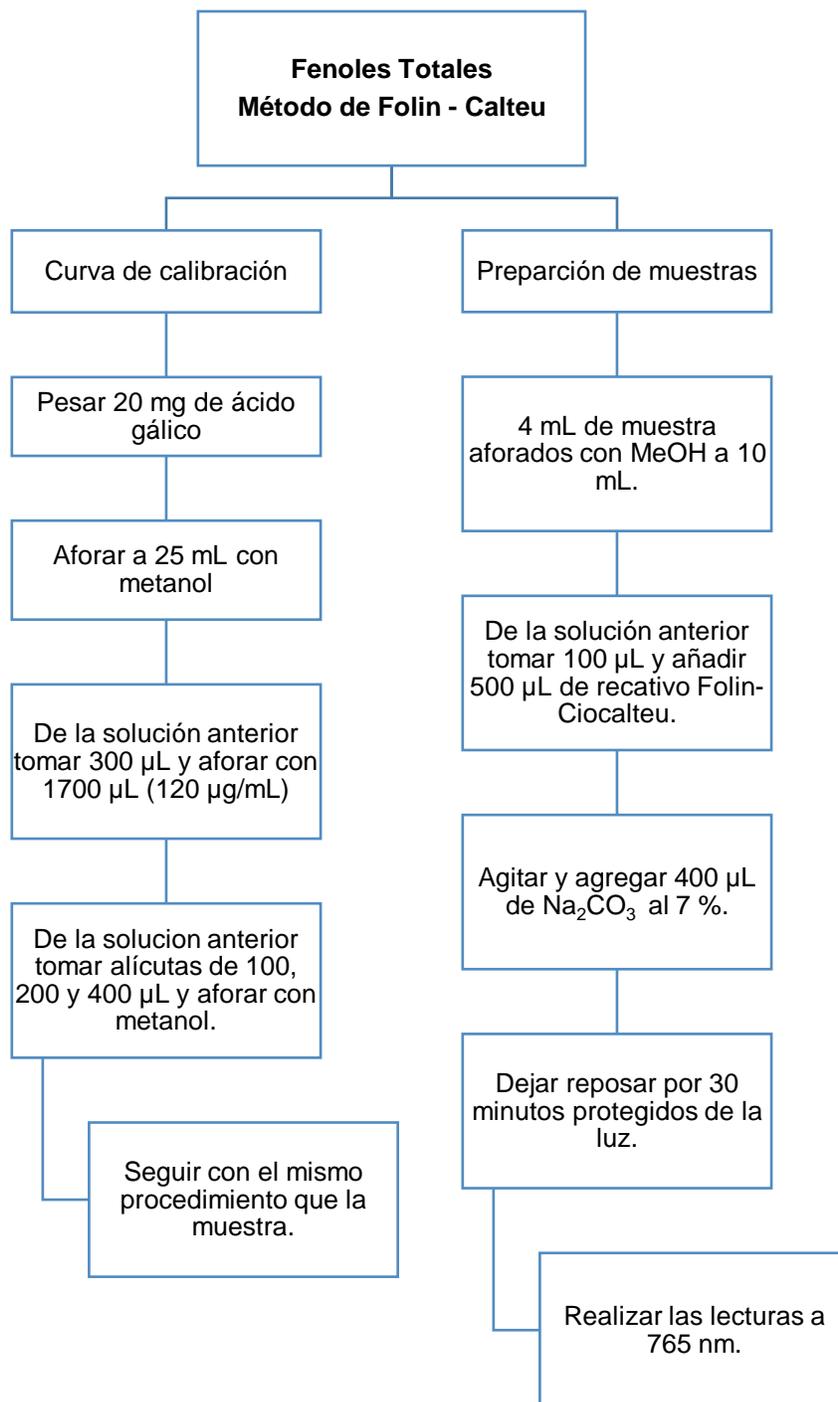


**Fuente:** Torres V.

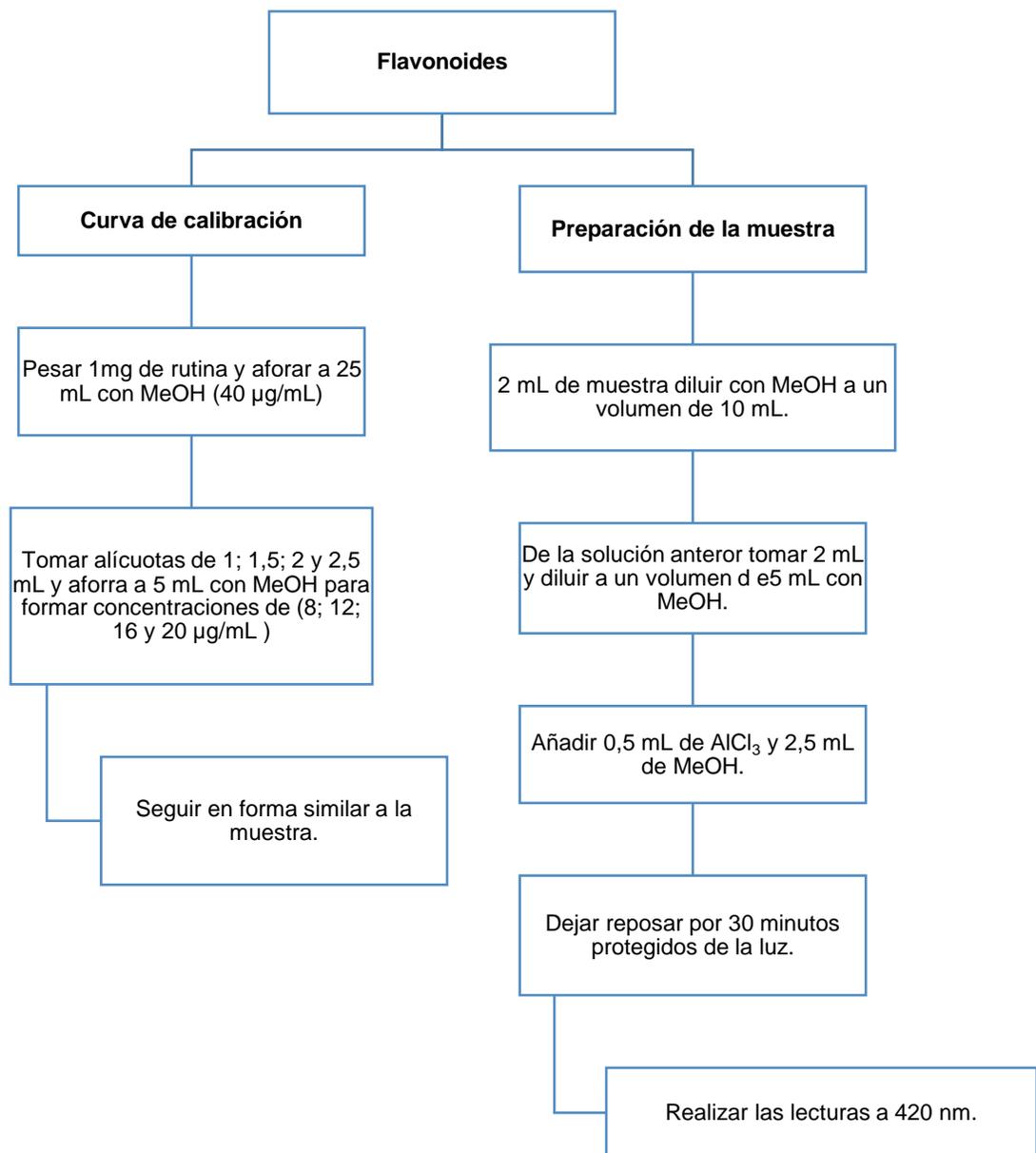
**Anexo 3.** Flujograma de obtención del extracto y las fracciones de *Brachyotum naudinii* Triana.



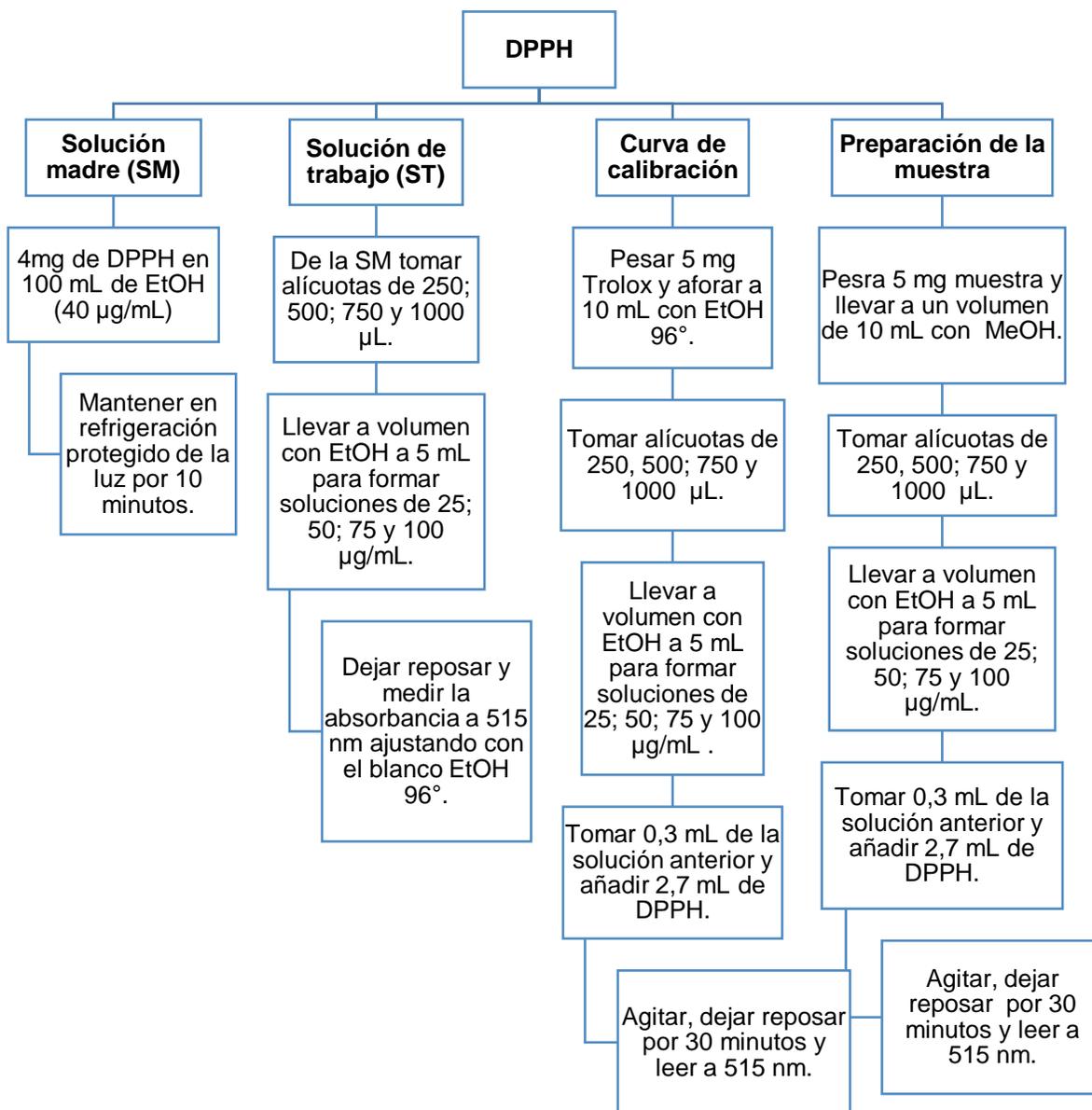
**Anexo 4.** Protocolo para la cuantificación de fenoles totales.



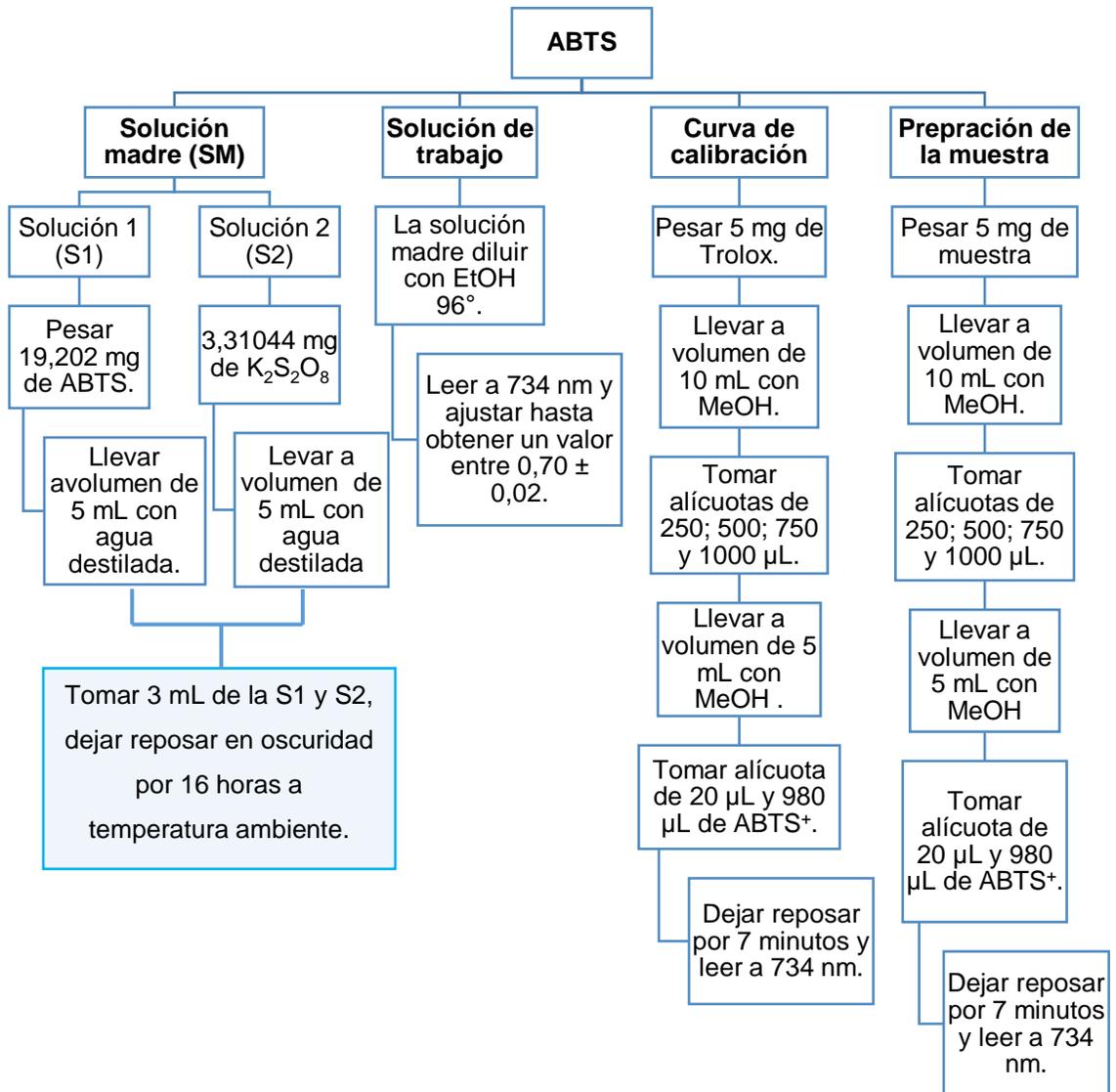
**Anexo 5.** Protocolo para la cuantificación del contenido de flavonoides.



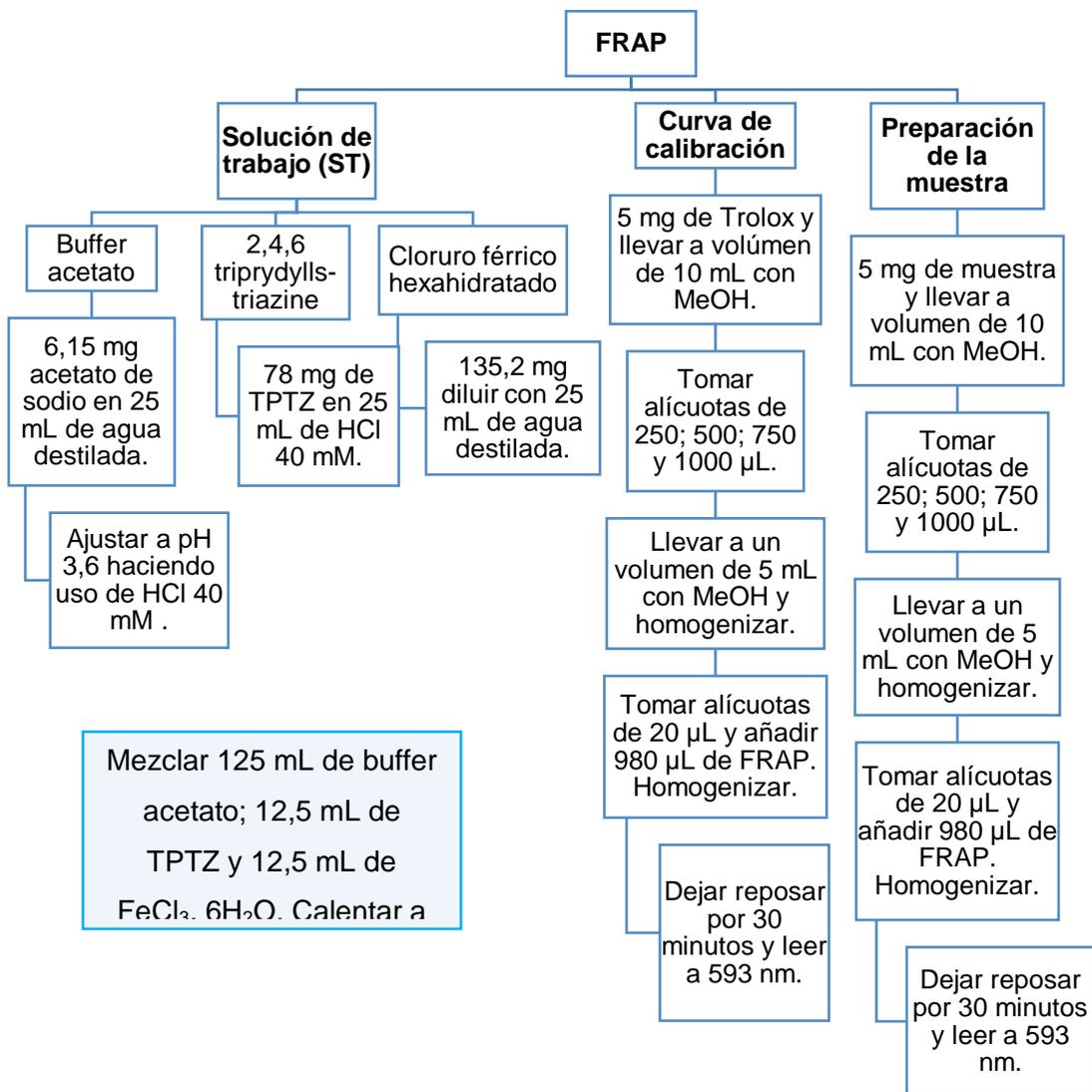
**Anexo 6.** Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante mediante el método DPPH.



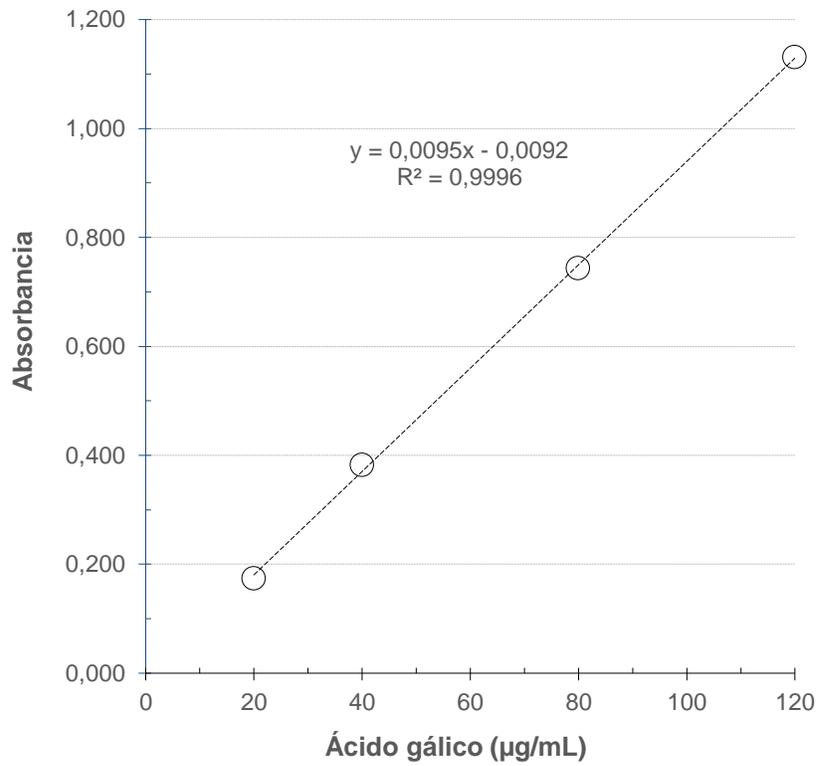
**Anexo 7.** Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante mediante el método ABTS.



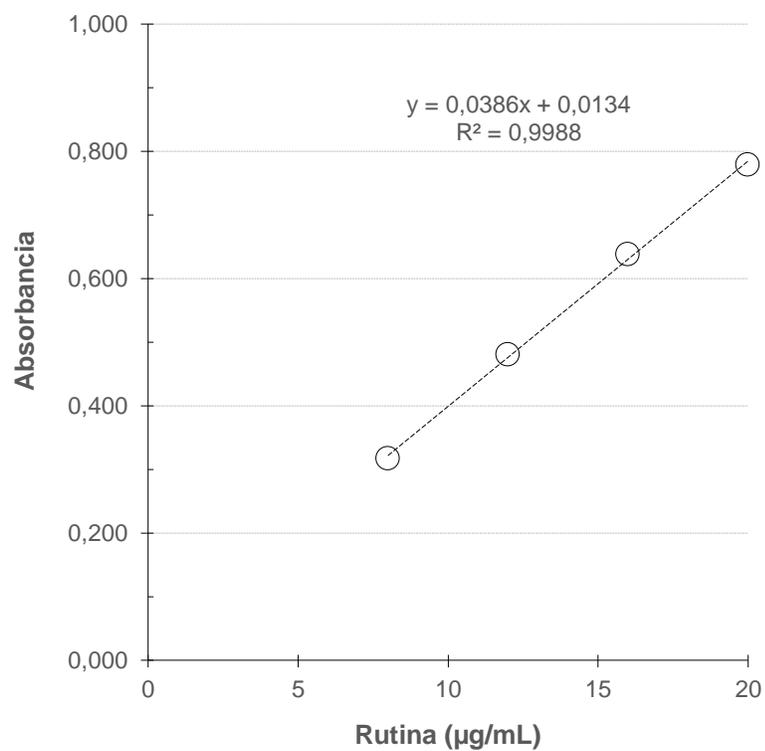
**Anexo 8.** Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante mediante el método FRAP del extracto metanólico total y las fracciones.



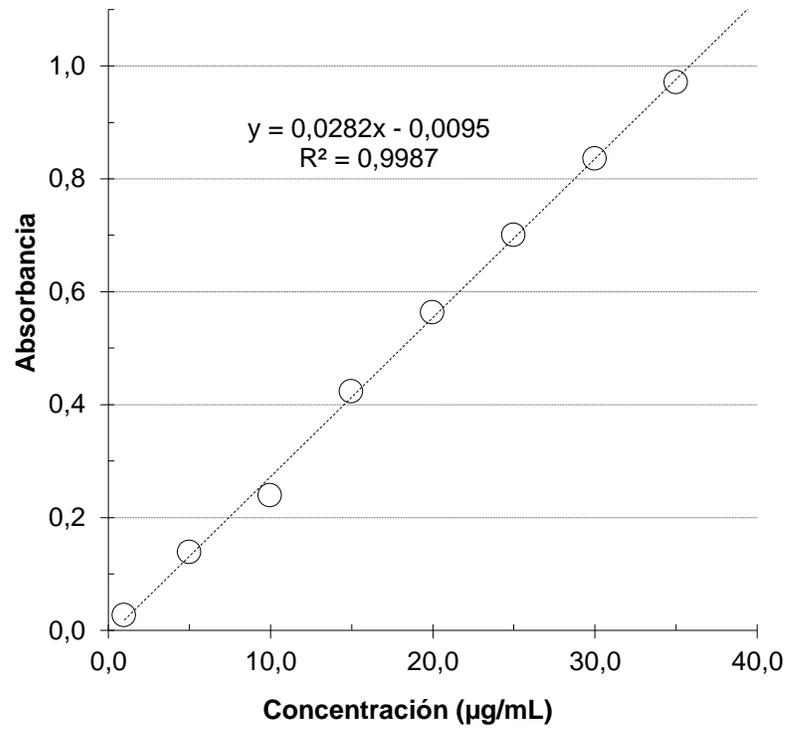
**Anexo 9.** Curva de calibración del ácido gálico para la determinación del contenido de fenoles totales.



**Anexo 10.** Curva de calibración de la rutina para la cuantificación del contenido de flavonoides.



**Anexo 11.** Curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante según el método DPPH.



**Anexo 12.** Datos descriptivos, prueba de homogeneidad de varianzas, análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de la cuantificación de fenoles totales.

Muestra	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Fracción hexánica	3	49,67	2,29	1,32	43,97	55,37	48,10	52,30
Fracción de acetato de etilo	3	495,60	3,20	1,85	487,65	503,55	492,40	498,80
Fracción metanólica	3	404,40	1,42	0,82	400,88	407,92	402,80	405,50
Extracto metanólico	3	496,30	4,76	2,75	484,48	508,12	491,40	500,90

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	p-valor
Se basa en la media	0,93	3	8	0,471
Se basa en la mediana	0,71	3	8	0,572
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,71	3	6,00	0,579
Se basa en la media recortada	0,92	3	8	0,476

ANOVA	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	405702,86	3	135234,29	13475,14	3,8 x 10 <sup>-15</sup>
Dentro de grupos	80,29	8	10,04		
Total	405783,15	11			

Factor	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Fracción hexánica	3	49,67		
Fracción metanólica	3		404,40	
Fracción de acetato de etilo	3			495,60
Extracto metanólico	3			496,81
Sig.		1,00	1,00	1,00

**Anexo 13.** Datos descriptivos, prueba de homogeneidad de varianzas, análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de la cuantificación de flavonoides.

Muestras	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Fracción hexánica	3	12,29	1,35	0,78	8,94	15,65	11,21	13,81
Fracción de acetato de etilo	3	97,00	1,31	0,76	93,74	100,25	95,81	98,40
Fracción metanólica	3	75,17	0,67	0,39	73,50	76,85	74,42	75,71
Extracto metanólico	3	100,99	1,17	0,67	98,09	103,90	99,70	101,97

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	0,593	3	8	0,637
Se basa en la mediana	0,196	3	8	0,896
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,196	3	6,854	0,896
Se basa en la media recortada	0,554	3	8	0,660

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	15115,94	3	5038,65	3761,84	6,19 x 10 <sup>-13</sup>
Dentro de grupos	10,72	8	1,34		
Total	15126,66	11			

Factor	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Fracción hexánica	3	12,29			
Fracción metanólica	3		75,17		
Fracción de acetato de etilo	3			97,00	
Extracto metanólico	3				100,99
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00

**Anexo 14.** Resultados del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de *Brachyotum naudinii* Triana.

<b>Muestra</b>	<b>Fenoles totales (mg GAE/g)</b>	<b>Flavonoides (mg RuE/g)</b>
Extracto metanólico	496,3 ± 2,75 <sup>a</sup>	100,9 ± 0,67 <sup>a</sup>
Fracción hexánica	49,6 ± 1,33 <sup>b</sup>	12,3 ± 0,78 <sup>b</sup>
Fracción de acetato de etilo	495,6 ± 1,83 <sup>a</sup>	96,9 ± 0,76 <sup>c</sup>
Fracción metanólica	404,4 ± 0,81 <sup>c</sup>	75,2 ± 0,39 <sup>d</sup>

Nota: mg GAE/g: miligramos equivalentes a ácido gálico por gramo de extracto. Mg RuE g/g: miligramos equivalentes a rutina por gramo de extracto. Los promedios corresponden a tres repeticiones e incluye el error estándar de la media (±). Estadístico de Levene ( $\alpha = 0,05$ ): p-valor > 0,05. ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ): p valor < 0,05; Prueba de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ): p-valor > 0,05 (a, b, c y d son subconjuntos homogéneos).

**Anexo 15.** Datos descriptivos, prueba de homogeneidad de varianzas, análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de la actividad antioxidante mediante el método DPPH.

Muestra	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Trolox 25 µg/mL	3	20,35	0,81	0,47	18,35	22,35	19,53	21,14
Trolox 50 µg/mL	3	43,54	1,36	0,79	40,15	46,93	41,99	44,55
Trolox 75 µg/mL	3	70,90	0,66	0,38	69,26	72,54	70,52	71,66
Trolox 100 µg/mL	3	91,91	0,20	0,11	91,42	92,40	91,75	92,13
FA 25 µg/mL	3	28,44	0,10	0,05	28,20	28,67	28,34	28,53
FA 50 µg/mL	3	50,84	0,62	0,36	49,31	52,37	50,24	51,47
FA 75 µg/mL	3	70,43	0,50	0,29	69,18	71,68	70,05	71,00
FA 100 µg/mL	3	85,81	0,20	0,11	85,32	86,31	85,59	85,97
FM 25 µg/mL	3	26,07	0,10	0,05	25,83	26,30	25,97	26,16
FM 50 µg/mL	3	46,00	0,24	0,14	45,40	46,60	45,78	46,26
FM 75 µg/mL	3	65,50	0,35	0,20	64,64	66,35	65,21	65,88
FM 100 µg/mL	3	82,30	0,14	0,08	81,95	82,66	82,18	82,46
EM 25 µg/mL	3	31,18	0,10	0,05	30,95	31,42	31,09	31,28
EM 50 µg/mL	3	55,07	0,62	0,36	53,53	56,62	54,41	55,64
EM 75 µg/mL	3	75,58	0,05	0,03	75,45	75,71	75,55	75,64
EM 100 µg/mL	3	91,25	0,49	0,28	90,04	92,46	90,71	91,66

FM: Fracción metanólica; EM: Extracto metanólico; FA: Fracción en acetato de etilo.

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	3,84	15	32	0,001
Se basa en la mediana	0,93	15	32	0,542
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,93	15	7,32	0,573
Se basa en la media recortada	3,53	15	32	0,001

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	26236,93	15	1749,13	6220,51	4,9 x 10 <sup>-51</sup>
Dentro de grupos	9,00	32	0,28		
Total	26245,93	47			

Anexo 15. Cont...

[µg/mL]	Factor	N	Subconjunto para alfa = 0,05															
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
25	Trolox	3	20,4															
	Fracción metanólica	3		26,1														
	Fracción de AcE	3			28,4													
	Extracto metanólico	3				31,2												
50	Trolox	3				43,5												
	Fracción metanólica	3					46,0											
	Fracción de AcE	3						50,8										
	Extracto metanólico	3							55,1									
75	Fracción metanólica	3								65,5								
	Fracción de AcE	3									70,4							
	Trolox	3										70,9						
	Extracto metanólico	3											75,6					
100	Fracción metanólica	3											82,3					
	Fracción de AcE	3												85,8				
	Extracto metanólico	3														91,2		
	Trolox	3															91,9	
Sig.			1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,97

[µg/mL]: concentración; AcE: Acetato de etilo

**Anexo 16.** Datos descriptivos, prueba de homogeneidad de varianzas, análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de la actividad antioxidante mediante el método ABTS<sup>•+</sup> de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana.

Muestra	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Trolox 25 µg/mL	3	9,49	0,15	0,09	9,12	9,86	9,34	9,64
Trolox 50 µg/mL	3	16,50	0,44	0,25	15,42	17,58	16,06	16,93
Trolox 100 µg/mL	3	33,62	0,47	0,27	32,45	34,79	33,28	34,16
Trolox 150 µg/mL	3	47,59	0,00	0,00	47,59	47,59	47,59	47,59
Trolox 200 µg/mL	3	67,79	1,13	0,65	64,97	70,60	66,86	69,05
FA 25 µg/mL	3	9,15	0,37	0,21	8,24	10,06	8,76	9,49
FA 50 µg/mL	3	18,74	1,23	0,71	15,69	21,78	17,96	20,15
FA 100 µg/mL	3	38,54	0,67	0,39	36,88	40,20	37,96	39,27
FA 150 µg/mL	3	59,13	0,39	0,22	58,17	60,08	58,69	59,42
FA 200 µg/mL	3	74,35	0,80	0,46	72,36	76,35	73,43	74,89
FM 25 µg/mL	3	7,98	0,88	0,51	5,78	10,18	7,15	8,91
FM 50 µg/mL	3	17,76	0,45	0,26	16,65	18,87	17,37	18,25
FM 100 µg/mL	3	32,60	3,96	2,29	22,76	42,45	28,03	35,04
FM 150 µg/mL	3	52,94	2,05	1,18	47,85	58,04	50,80	54,89
FM 200 µg/mL	3	68,56	0,66	0,38	66,92	70,21	67,88	69,20
EM 25 µg/mL	3	8,81	0,66	0,38	7,18	10,44	8,18	9,49
EM 50 µg/mL	3	19,37	0,60	0,35	17,87	20,87	18,69	19,85
EM 100 µg/mL	3	42,44	1,88	1,09	37,76	47,11	40,88	44,53
EM 150 µg/mL	3	64,62	0,61	0,35	63,11	66,14	63,94	65,11
EM 200 µg/mL	3	77,37	0,53	0,30	76,07	78,68	76,79	77,81

FM: Fracción metanólica; EM: Extracto metanólico; FA: Fracción en acetato de etilo.

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	5,533	19	40	2,7 x 10 <sup>-6</sup>
Se basa en la mediana	0,779	19	40	0,716
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,779	19	4,45	0,688
Se basa en la media recortada	4,870	19	40	0,000

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	33653,62	19,00	1771,24	1145,52	1,03 x 10 <sup>-48</sup>
Dentro de grupos	61,85	40,00	1,55		
Total	33715,47	59,00			

Anexo 16. Cont...

(µg /mL)	Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0,05										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
25	Fracción metanólica	3	7,98										
	Extracto metanólico	3	8,81										
	Fracción de AcE	3	9,15										
	Trolox	3	9,49										
50	Trolox	3		16,50									
	Fracción metanólica	3		17,76									
	Fracción de AcE	3		18,74									
	Ex-MeOH	3		19,37									
100	Fracción metanólica	3			32,60								
	Trolox	3			33,62								
	Fracción de AcE	3			38,54								
	Extracto metanólico	3				42,44							
150	Trolox	3					47,59						
	Fracción metanólica	3						52,94					
	Fracción de AcE	3							59,13				
	Extracto metanólico	3								64,62			
200	Trolox	3								67,79	67,79		
	Fracción metanólica	3									68,56		
	Fracción de AcE	3										74,35	
	Extracto metanólico	3											77,37
Sig.			0,992	0,376	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,226	1,00	0,293

[µg/mL]: concentración; AcE: Acetato de etilo

**Anexo 17.** Datos descriptivos, prueba de homogeneidad de varianzas, análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de la actividad antioxidante mediante el método FRAP.

Muestra	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
					Trolox 25 µg/mL	3		
Trolox 50 µg/mL	3	62,73	0,68	0,39	61,04	64,42	62,20	63,50
Trolox 100 µg/mL	3	77,79	0,16	0,09	77,40	78,19	77,62	77,93
Trolox 150 µg/mL	3	84,51	0,10	0,06	84,27	84,75	84,44	84,62
Trolox 200 µg/mL	3	87,26	0,05	0,03	87,13	87,39	87,20	87,30
Trolox 250 µg/mL	3	90,23	0,02	0,01	90,18	90,28	90,21	90,25
FA 25 µg/mL	3	34,47	0,74	0,43	32,64	36,30	33,65	35,08
FA 50 µg/mL	3	49,24	0,49	0,28	48,02	50,45	48,79	49,76
FA 100 µg/mL	3	59,76	0,19	0,11	59,28	60,23	59,58	59,96
FA 150 µg/mL	3	65,65	0,32	0,18	64,87	66,44	65,30	65,91
FM 25 µg/mL	3	32,03	1,67	0,96	27,89	36,18	30,15	33,33
FM 50 µg/mL	3	50,04	0,66	0,38	48,38	51,69	49,33	50,65
FM 100 µg/mL	3	60,98	0,49	0,28	59,77	62,19	60,66	61,54
FM 150 µg/mL	3	67,15	0,23	0,14	66,56	67,73	66,96	67,41
EM 25 µg/mL	3	38,00	0,89	0,51	35,80	40,20	37,18	38,94
EM 50 µg/mL	3	53,91	0,45	0,26	52,80	55,02	53,42	54,30
EM 100 µg/mL	3	63,26	0,38	0,22	62,32	64,20	62,93	63,67
EM 150 µg/mL	3	68,93	0,11	0,06	68,65	69,21	68,81	69,03

FM: Fracción metanólica; EM: Extracto metanólico; FA: Fracción en acetato de etilo.

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	4,124	17	36	1,7 x 10 <sup>-4</sup>
Se basa en la mediana	1,021	17	36	0,460
Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,021	17	8,09	0,515
Se basa en la media recortada	3,788	17	36	0,000

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	15286,44	17	899,20	2422,23	7,6 x 10 <sup>-50</sup>
Dentro de grupos	13,36	36	0,37		
Total	15299,81	53			

## Anexo 17. Cont...

Muestras	N	Subconjunto para alfa = 0,05																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
FM 25 µg/mL	3	32,0																
FA 25 µg/mL	3		34,5															
EM 25 µg/mL	3			38,0														
Trolox 25 µg/mL	3				46,7													
FA 50 µg/mL	3					49,2												
FM 50 µg/mL	3					50,0												
EM 50 µg/mL	3						53,9											
FA 100 µg/mL	3							59,8										
FM 100 µg/mL	3								61,0	61,0								
Trolox 50 µg/mL	3									62,7	62,7							
EM 100 µg/mL	3										63,3							
FA 150 µg/mL	3											65,7						
FM 150 µg/mL	3												67,1	67,1				
EM 150 µg/mL	3													68,9				
Trolox 100 µg/mL	3														77,8			
Trolox 150 µg/mL	3															84,5		
Trolox 200 µg/mL	3																87,3	
Trolox 250 µg/mL	3																	90,2
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	0,97	1,00	0,57	0,09	1,00	0,25	0,07	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	

FM: Fracción metanólica; EM: Extracto metanólico; FA: Fracción en acetato de etilo.

**Anexo 18.** Datos descriptivos, prueba de homogeneidad de varianzas, análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de la concentración eficiente antioxidante mediante el método DPPH, ABTS\* y FRAP.

Método	Muestras	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
DPPH	Trolox	3	52,37	1,00	0,58	49,88	54,85	51,60	53,50
	Fracción de acetato de etilo	3	45,30	0,17	0,10	44,87	45,73	45,10	45,40
	Fracción metanólica	3	50,97	0,06	0,03	50,82	51,11	50,90	51,00
	Extracto metanólico	3	41,00	0,30	0,17	40,25	41,75	40,70	41,30
ABTS	Trolox	3	150,60	1,46	0,84	146,99	154,21	149,14	152,05
	Fracción de acetato de etilo	3	131,44	1,03	0,60	128,87	134,01	130,78	132,63
	Fracción metanólica	3	145,43	4,65	2,68	133,88	156,98	141,86	150,69
	Extracto metanólico	3	123,52	0,36	0,21	122,62	124,42	123,28	123,94
FRAP	Trolox	3	26,85	0,58	0,34	25,40	28,29	26,24	27,40
	Fracción de acetato de etilo	3	50,04	0,63	0,37	48,47	51,61	49,65	50,77
	Fracción metanólica	3	57,64	1,27	0,73	54,84	60,79	56,67	59,08
	Extracto metanólico	3	46,14	0,66	0,38	44,51	47,77	45,58	46,86

Método	Condición	Estadístico de Levene	gl1	gl2	p-valor
CE50_DPPH	Se basa en la media	6,85	3	8	0,013
	Se basa en la mediana	1,31	3	8	0,336
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,31	3	2,43	0,437
	Se basa en la media recortada	6,15	3	8	0,018
CE50_ABTS	Se basa en la media	6,19	3	8	0,018
	Se basa en la mediana	1,20	3	8	0,369
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,20	3	2,55	0,457
	Se basa en la media recortada	5,57	3	8	0,023
CE50_FRAP	Se basa en la media	1,679	3	8	0,248
	Se basa en la mediana	0,306	3	8	0,820
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,306	3	4,849	0,821
	Se basa en la media recortada	1,507	3	8	0,285

Método	Diferencia	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
CE50_DPPH	Entre grupos	248,28	3	82,76	293,82	$1,6 \times 10^{-8}$
	Dentro de grupos	2,25	8	0,28		
	Total	250,53	11			
CE50_ABTS	Entre grupos	1399,11	3	466,37	74,82	$3,4 \times 10^{-6}$
	Dentro de grupos	49,86	8	6,23		
	Total	1448,98	11			
CE50_FRAP	Entre grupos	1547,94	3	515,98	741,80	$4,04 \times 10^{-10}$
	Dentro de grupos	5,57	8	0,70		
	Total	1553,50	11			

## Anexo 18. Cont.

Muestra - DPPH	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
Extracto metanólico	3	41,00			
Fracción de acetato de etilo	3		45,30		
Fracción metanólica	3			50,97	
Trolox	3				52,37
	Sig.	1,00	1,00	1,00	1,00

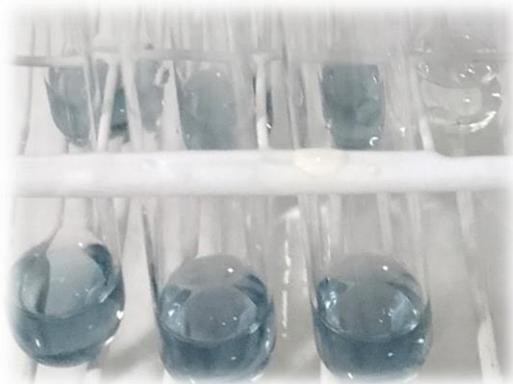
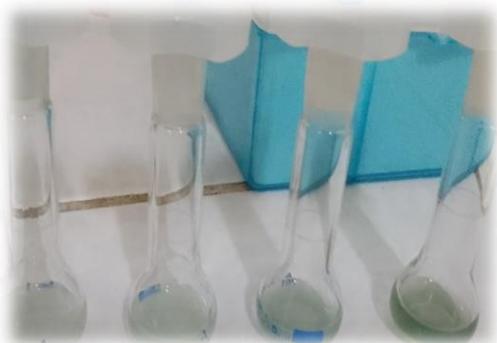
Muestra - ABTS	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
Extracto metanólico	3	123,5		
Fracción de acetato de etilo	3		131,4	
Fracción metanólica	3			145,4
Trolox	3			150,6
	Sig.	1,00	1,00	0,13

Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
Trolox	3	26,8			
Extracto metanólico	3		46,1		
Fracción de acetato de etilo	3			50,04	
Fracción metanólica	3				57,6
	Sig.	1,00	1,00	1,00	1,00

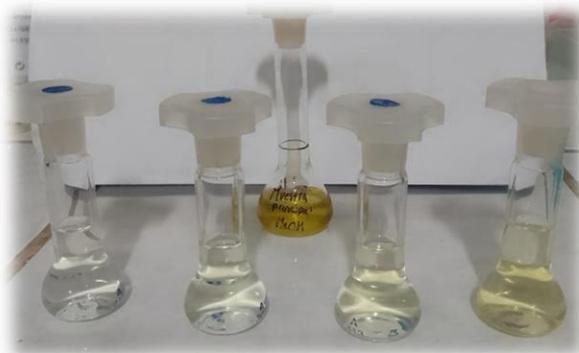
Muestra	Concentración eficiente antioxidante ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	DPPH	ABTS**	FRAP
Fracción de acetato de etilo	45,3 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	131,4 $\pm$ 0,60 <sup>a</sup>	50,0 $\pm$ 0,37 <sup>a</sup>
Fracción metanólica	51,0 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	145,4 $\pm$ 2,68 <sup>b</sup>	57,6 $\pm$ 0,73 <sup>b</sup>
Extracto metanólico	41,0 $\pm$ 0,17 <sup>c</sup>	123,5 $\pm$ 0,21 <sup>c</sup>	46,1 $\pm$ 0,38 <sup>c</sup>
Trolox	52,4 $\pm$ 0,56 <sup>d</sup>	150,6 $\pm$ 0,84 <sup>b</sup>	26,8 $\pm$ 0,34 <sup>d</sup>

Nota: Los promedios de tres repeticiones e incluye el error estándar de la media ( $\pm$ ). Estadístico de Levene ( $p > 0,05$ ). ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ); Prueba de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ): a, b, c y d son subconjuntos homogéneos.

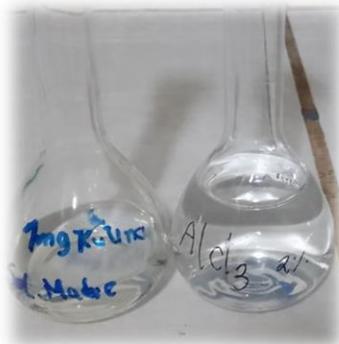
**Anexo 19.** Elaboración de la curva de calibración para la cuantificación del contenido de fenoles totales.



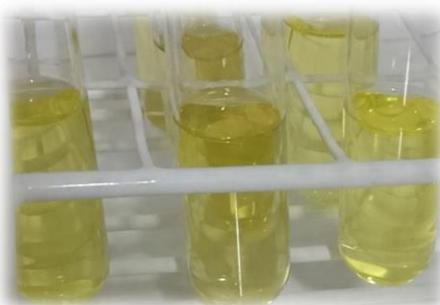
**Anexo 20.** Cuantificación de fenoles totales en hojas de *Brachyotum naudinii* Triana.



**Anexo 21.** Elaboración de la curva de calibración de rutina para la cuantificación de flavonoides.



Anexo 22. Cuantificación de flavonoides en hojas de *Brachyotum naudinii* Triana.



**Anexo 23.** Determinación de la actividad antioxidante por el método *in vitro* DPPH de Trolox



**Anexo 24.** Diluciones del extracto y las fracciones de *Brachyotum naudinni* Triana, para la determinación de la actividad antioxidante mediante el método DPPH.



**Anexo 25.** Diluciones del ABTS<sup>•+</sup> para realizar la curva de calibración del Trolox.



**Anexo 26.** Matriz de consistencia: Perfil químico y potencial antioxidante de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana.

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
¿Cuál es la composición química y potencial antioxidante de las hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana?	<p><b>Objetivo general:</b> Determinar el perfil químico y potencial antioxidante de las hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.</p> <p><b>Objetivos específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Identificar los metabolitos secundarios en las hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.</li> <li>Identificar los compuestos químicos de las hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana mediante cromatografía líquida de ultra-alta performance acoplada a espectrometría de masas (LC-MSMS).</li> <li>Evaluar el contenido de fenoles totales en el extracto metanólico de las hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana y de sus fracciones hexánica, de acetato de etilo y metanólica.</li> <li>Evaluar el contenido de flavonoides en el extracto metanólico hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana y de sus fracciones hexánica, de acetato de etilo y metanólica.</li> <li>Evaluar la actividad antioxidante in vitro del extracto metanólico de las hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana y de sus fracciones hexánica, de acetato de etilo y metanólica.</li> </ul>	<p><b>Hi:</b> Las hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> tiene contiene compuestos químicos con elevado potencial antioxidante.</p> <p><b>Ho:</b> Las hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> tiene no contiene compuestos químicos con elevado potencial antioxidante.</p>	<p><b>Variable independiente</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Perfil químico de las hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana</li> </ul> <p>Indicador: Presencia y/o ausencia. Concentración de las muestras de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana (µg/mL)</p> <p><b>Variable dependiente</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Potencial antioxidante</li> </ul> <p>Indicador: Porcentaje de actividad antioxidante y concentración eficiente antioxidante.</p>	<p><b>Tipo de investigación</b> Básica y aplicada.</p> <p><b>Definición de la población y muestra</b></p> <p><b>a) Población.</b> - Las hojas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana serán recolectadas en la zona conocida como comunidad de Huaraca, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.</p> <p><b>b) Muestra.</b> - 1 kilogramo de hojas frescas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana que serán recolectadas en la comunidad de Huaraca a 3800 msnm, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.</p> <p><b>Métodos instrumentales para la recolección de datos</b> La obtención de los extractos se realizó con un extractor acelerado por solventes Dionex™ ASE 150 (ASE). Para emplear determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides y potencial antioxidante se empleó la espectrofotometría UV-VIS (GENESYS ISO/THERMO SCIENTIFIC 150); mientras que, para determinar el perfil químico se hizo uso de la cromatografía líquida acoplada a masas. La concentración de extracto se realizó en rotavapor Buchi R-3000.</p> <p><b>Análisis estadístico</b> Los datos fueron procesados por Microsoft Excel y SPSS 20.0. Los resultados se expresaron con promedios y error estándar de la media de tres repeticiones. Se midió a homocedasticidad de los datos con la prueba de Levene. Se identificó diferencias significativas con la prueba de Análisis de Varianza. Se realizó comparaciones múltiples con la prueba de Tukey. Se utilizó un nivel de confianza del 95,0 % para las pruebas estadísticas.</p>

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

RESOLUCIÓN DECANAL N° 383–2024-UNSCH-FCSA-D

### BACHILLER: Eder CUSINGA SOLANO

En la ciudad de Ayacucho, siendo las tres de la tarde del día uno de abril de dos mil veinticuatro, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Ciencias de la Salud los docentes miembros del jurado evaluador de sustentación, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado **“PERFIL QUÍMICO Y POTENCIAL ANTIOXIDANTE IN VITRO DE LAS HOJAS DE *Brachyotum naudinii* Triana”**. Presentado por el bachiller Eder CUSINGA SOLANO para optar el título profesional de Químico Farmacéutico.

El Jurado evaluador de sustentación está conformado por:

Presidente : Prof. Edgar CÁRDENAS LANDEO (delegado por el decano)

Miembros : Prof. Hugo Roberto LUNA MOLERO  
: Prof. Stephany Massiell BARBARAN VILCATOMA

4to jurado : Prof. Mónica GÓMEZ QUISPE

Asesor : Prof. Marco Rolando ARONÉS JARA

Secretaria Docente: Liselly Elvira CHAUCA RETAMOZO

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

Da inicio la exposición el Bachiller: Eder CUSINGA SOLANO; y, una vez concluida la exposición, el presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas. Acto seguido, da pase al asesor de tesis profesor Marco R. Aronés Jara para que pueda realizar algunas aclaraciones y comentarios.

Concluida la ronda de preguntas, el presidente invita al sustentante para abandonar el auditorio y se pueda proceder con la calificación.

### RESULTADO DE LA EVALUACIÓN FINAL

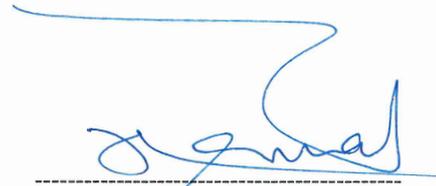
JURADOS	TEXTO	EXPOSICIÓN	PREGUNTAS	P.FINAL
Prof. Hugo Roberto Luna Molero	17	17	16	17
Prof. Stephany Massiell Barbaran Vilcatoma	18	17	17	17
Prof. Mónica Gómez Quispe	17	17	16	17
PROMEDIO FINAL:			17	

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar al Bachiller **Eder CUSINGA SOLANO**, quien obtuvo la nota final de **Diecisiete (17)** para la cual los miembros del jurado evaluador firman al pie del presente. Siendo las 16:40 h del día, se da por concluido el presente acto académico.



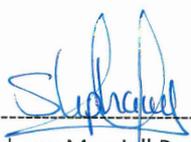
---

Prof. Edgar Cárdenas Landeo  
Presidente



---

Prof. Hugo Roberto Luna Molero  
Miembro



---

Prof. Stephany Massiell Barbaran Vilcatoma  
Miembro



---

Prof. Mónica Gómez Quispe  
Miembro



---

Prof. Marco Rolando Aronés Jara  
Miembro Asesor



---

Prof. Liselly Elvira Chauca Retamozo  
Secretaria Docente



**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 - 012 - 2024**

El suscrito docente – instructor responsable de operativizar, verificar, garantizar y controlar la originalidad de los trabajos de tesis de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica designado por Resolución Decanal N° 0453 – 2023 – UNSCH – FCSA/D de fecha 15 de mayo de 2023, deja constancia que el trabajo de tesis titulado “”

Autor: Bach. **Eder CUSINGA SOLANO**

Asesor: Profesor **Marco Rolando ARONÉS JARA**

Ha sido sometido al análisis del sistema antiplagio **TURNITIN** concluyendo que presenta un porcentaje de **24 % 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, 22 de marzo de 2024



Firmado digitalmente por:  
AGUILAR FELICES Enrique  
Javier FAU 20143880754 soft  
Motivo: Soy el autor del  
documento  
Fecha: 22/03/2024 09:18:36-0500

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

cc. Archivo



**UNSCH**

FACULTAD DE  
CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE  
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



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

**(C°24-2024-EPFB-UNSCH)**

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

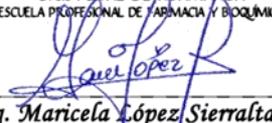
**Perfil químico y potencial antioxidante *in vitro* de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana**

Presentado por: Bach. CUSINGA SOLANO, EDER

Ha sido sometido al análisis mediante el sistema TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **24% de índice de similitud.**

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

Ayacucho, 22 de marzo del 2024

  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
  
**Mg. Maricela López Sierralta**  
DIRECTORA  
Docente. Instructor  
Segunda instancia

cc.  
Archivo.

# Perfil químico y potencial antioxidante in vitro de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana

*by* Eder Cusinga Solano

---

**Submission date:** 22-Mar-2024 05:58PM (UTC-0500)

**Submission ID:** 2328287328

**File name:** TESIS\_EDER\_CUSINGA\_SOLANO.pdf (1.72M)

**Word count:** 18031

**Character count:** 88923

# Perfil químico y potencial antioxidante in vitro de las hojas de *Brachyotum naudinii* Triana

## ORIGINALITY REPORT

24%

SIMILARITY INDEX

24%

INTERNET SOURCES

8%

PUBLICATIONS

16%

STUDENT PAPERS

## PRIMARY SOURCES

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Student Paper	10%
2	repositorio.unsch.edu.pe Internet Source	7%
3	revistas.sqperu.org.pe Internet Source	2%
4	hdl.handle.net Internet Source	1%
5	Devora Gutierrez, Sandra. "Estudio químico y farmacológico de especies botánicas endémicas canarias", Universidad de La Laguna (Canary Islands, Spain), 2022 Publication	1%
6	revistas.unsch.edu.pe Internet Source	1%
7	www.scielo.org.pe Internet Source	1%

8	<a href="http://repositorio.ufpe.br">repositorio.ufpe.br</a> Internet Source	<1 %
9	<a href="http://www.authorstream.com">www.authorstream.com</a> Internet Source	<1 %
10	<a href="http://biblioteca.umar.mx">biblioteca.umar.mx</a> Internet Source	<1 %
11	<a href="http://www.redalyc.org">www.redalyc.org</a> Internet Source	<1 %
12	<a href="http://bdigital.unal.edu.co">bdigital.unal.edu.co</a> Internet Source	<1 %
13	Submitted to Universidad Politecnica Salesiana del Ecuador Student Paper	<1 %
14	<a href="http://bdtd.uftm.edu.br">bdtd.uftm.edu.br</a> Internet Source	<1 %

Exclude quotes  On

Exclude matches  < 30 words

Exclude bibliography  On