

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



Contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.

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

PRESENTADO POR LA:
Bach. CHUCHÓN HINOSTROZA, Lucy Margot

AYACUCHO – PERÚ

2018

Gracias a Dios por darme fuerzas para culminar la tesis. A mi familia, mi madre por su amor y apoyo incondicional, a mi esposo por su continua comprensión aún en los momentos más difíciles.

AGRADECIMIENTO

A mi *Alma Mater*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de excelentes profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, en especial al “Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos”.

Al Mg. Q.F. Marco Rolando Aronés Jara por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en la dirección de esta tesis.

A todas las personas que me brindaron su apoyo en la conducción del presente trabajo de investigación, cuyos esfuerzos se materializan en este informe.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Familia Berberidaceae	11
2.3. Aspectos Botánicos de <i>Berberis boliviana</i> Lechl.	12
2.4. Compuestos fenólicos	14
2.5. Radicales Libres	17
2.6. Estrés oxidativo	18
2.7. Antioxidantes	18
2.8. Medición de la actividad antioxidante	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	23
3.2. Definición de población y muestra	23
3.3. Metodología y recolección de datos	23
3.3.1. Recolección e identificación de la muestra vegetal	23
3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico	24
3.3.3. Identificación de compuestos químicos del extracto hidroalcohólico	27
3.3.4. Cuantificación de fenoles totales	27
3.3.5. Cuantificación de flavonoides totales	28
3.3.6. Determinación de la actividad antioxidante	28
3.4. Análisis estadístico	31
IV. RESULTADOS	31
V. DISCUSIÓN	41
VI. CONCLUSIONES	41
VII. RECOMENDACIONES	45
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	51

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Clasificación taxonómica <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”	12
Tabla 2. Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018	32
Tabla 3. Concentración media inhibitoria (CI ₅₀) del extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	35

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Clasificación de los compuestos fenólicos.	15
Figura 2. Estructura básica del fenol	16
Figura 3. Núcleo básico de los flavonoides.	17
Figura 4. Estructura química de los flavonoides.	17
Figura 5. Mecanismo de reacción del DPPH con sustancias antioxidantes (AH)	21
Figura 6. Contenido de fenoles totales y flavonoides totales en el extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	33
Figura 7. Actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH del extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	34

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de identificación taxonómica de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	52
Anexo 2. Fotografía de las hojas y frutos de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	53
Anexo 3. Flujograma de procedimientos a seguir para la determinación de la actividad antioxidante de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	54
Anexo 4. Identificación fitoquímica del extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018	55
Anexo 5. Resultados de la identificación fitoquímica del extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	56
Anexo 6. Metodología para cuantificación de fenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu del extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	57
Anexo 7. Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales del extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis</i> sp. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	58
Anexo 8. Protocolo para la determinación del contenido de flavonoides totales en el extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	59
Anexo 9. Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides totales del extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	60
Anexo 10. Protocolo para la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH del extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	61

Anexo 11.	Curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante, según el método DPPH del extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	62
Anexo 12.	Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH del extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	63
Anexo 13.	Prueba T student de igualdad de varianzas del Cl_{50} , mediante la captación del radical DPPH del extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	64
Anexo 14.	Comparación múltiple de duncan de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH del extracto atomizado de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.	65
Anexo 15.	Matriz de consistencia	66

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. El tipo de estudio es básico descriptivo y fue desarrollada en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga durante los meses de julio – diciembre del 2018. Las muestras fueron recolectadas al azar, durante el mes de julio de la comunidad de Huascahura, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. Se realizó una extracción hidroalcohólica por percolación y se concentró en baño maría para reducir el grado alcohólico, seguidamente se realizó el secado por atomización. Al extracto atomizado, se realizó la identificación fitoquímica utilizando el método de coloración y precipitación, identificando la presencia de taninos condensados, flavonoides, saponinas, catequinas, cumarinas, quinonas y azúcares reductores. La cuantificación de fenoles y flavonoides fue realizada de acuerdo al método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu y cloruro de aluminio respectivamente. El contenido de fenoles y flavonoides totales fue de 208,9 mg equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto atomizado (EAG/g EA) y 43,9 mg equivalentes de rutina por gramo de extracto atomizado (ERu/g EA) respectivamente. La determinación de la actividad antioxidante fue mediante el método colorimétrico de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo. El porcentaje de actividad antioxidante a las concentraciones de 25, 50 y 100 µg/mL fue de 6,04%; 9,38% y 19,40% respectivamente. La concentración media inhibitoria (CI₅₀) del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, sobre el radical DPPH fue de 262,3 µg/mL. Los resultados son estadísticamente diferentes al estándar Trolox ($p = 7,8 \times 10^{-26}$)

Palabras clave: *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Actividad antioxidante, fenoles totales, flavonoides totales.

I. INTRODUCCIÓN

La excesiva oxidación de biomoléculas da lugar a diversos daños en el organismo. Así, un exceso de radicales libres se ha relacionado con una mayor incidencia de diversas enfermedades degenerativas como cáncer, enfermedades cardíacas, inflamación, disfunción cerebral, aceleración del envejecimiento, etc.¹

El organismo humano combate los RL por medio de antioxidantes biológicos como las enzimas, superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y dietéticos como la vitamina E, vitamina C, carotenoides y flavonoides².

En los últimos 30 años viene desarrollándose cada día un interés mayor por los problemas relacionados con el estrés oxidativo, los radicales libres, las especies reactivas del oxígeno y los antioxidantes, todo esto dado por la importancia que poseen en la bioquímica, la biología y la medicina³.

Numerosos estudios de plantas medicinales se han realizado desde hace décadas, a causa del uso potencial como fuente de sustancias con propiedades biológicas. Uno de los componentes principales de las plantas son los antioxidantes, sustancias existentes en determinados alimentos que actúan protegiendo al organismo de la acción de los radicales libres, causantes de los procesos de envejecimiento y otras enfermedades⁴.

El consumo regular de los alimentos que contienen este tipo de compuestos reducen el riesgo contra enfermedades crónicas asociadas con el daño oxidativo, como las enfermedades cardiovasculares y el cáncer, además pueden ser utilizados como antioxidantes ya que poseen actividad sobre radicales libres y la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad. Es por esto que en los últimos años diversas investigaciones han sido centradas al estudio de compuestos bioactivos de origen fenólico, como los polifenoles, flavonoides y los ácidos fenólicos, los cuales se encuentran abundantemente en muchas plantas².

A diferencia de las plantas, los seres humanos no contamos con los metabolitos secundarios. Nuestra defensa antioxidante se limita a los compuestos que

normalmente biosintetiza el organismo y aquellos que ingresan en nuestro organismo a través de la dieta.

Por ello la importancia de investigar a profundidad los productos naturales que presenten actividad antioxidante, ya sea como alimentos o para tratamiento de enfermedades.

El presente trabajo tiene la finalidad de cuantificar los flavonoides y compuestos fenólicos, así como su actividad antioxidante de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”.

Objetivos

1.1.1. Objetivo general

- Determinar el Contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”.

1.1.2. Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos presentes en las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”.
- Cuantificar el contenido de fenoles totales de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”.
- Cuantificar el contenido de flavonoides totales de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”.
- Determinar la capacidad antioxidante de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Cerrón y López³³ en el año 2013, presentó su trabajo de investigación titulada extracción y cuantificación de compuestos con actividad antioxidante a partir de cascarras de tres variedades de papa (*solanum tuberosum*); se evaluó la capacidad antioxidante de extractos de cáscaras de tres variedades de papa (*solanum tuberosum*): diacol capiro, parda pastusa y roja Nariño cultivadas en el departamento de Nariño. Los extractos de cáscaras de papa se obtuvieron por técnicas de extracción con solventes orgánicos (metanol y etanol grado HPLC), en condiciones de agitación constante a temperatura ambiente. Se determinó el contenido de fenoles totales por el método de Folin-ciocalteu, la actividad antioxidante se cuantificó por medio de los radicales 2,2 azinobis-(3-etilbenzotiazon-6-ácido sulfónico) (ABTS) y 2,2-difenil-picrilhidrazilo(DPPH), además se realizó la cuantificación de compuestos fenólicos por medio de un análisis de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) utilizando un patrón de ácido cafeico. Se encontró un mayor contenido de fenoles y actividad antioxidante cuando se utilizó metanol HPLC para la extracción en la cáscara de papa de las tres variedades en estudio, los extractos metanólicos de la variedad diacol capiro (DM) mostraron un mayor contenido de compuestos fenólicos con 652.90 mg AGE/100g de cáscara de papa seca, además se obtuvo un valor de EC₅₀ de 26,906 g de cáscara de papa seca/L y una eficiencia antirradical de $6,183 \times 10^{-3}$ en la misma variedad.

Martínez²¹, en el año 2013, en su investigación titulada: Efecto del procesamiento en el contenido de compuestos fenólicos y las propiedades antioxidantes de diferentes variedades de frijol (*Phaseolus Vulgaris L*) de 5 variedades de frijol consumido en México (bayo, flor de mayo, mayocoba, negro Jamapa y pinto) y de sus productos de procesamiento después de tres tratamientos térmicos diferentes: en agua hirviendo (receta tradicional mexicana), al vapor a presión atmosférica y

a presión controlada, para determinar la relación existente entre los compuestos fenólicos totales y las distintas actividades antioxidantes. Los extractos crudos se obtuvieron por agitación constante con agua destilada en tubos protegidos de la luz. El contenido de compuestos fenólicos totales se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu y se encontraron en un intervalo de 17.6 a 35 mg/g en el frijol crudo. El método a presión controlada mostró 63.7% de retención de compuestos fenólicos, los métodos de cocción al vapor y en agua hirviendo a presión atmosférica retuvieron 46.4% y 33.3%, respectivamente. Una baja cantidad de compuestos fenólicos se observó en el agua de remojo y los caldos de cocción (0.8 a 5.5 mg/mL). La actividad antioxidante se determinó mediante espectrofotometría, la correlación que existe entre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante es de $r^2 = 0.97$ para el radical ABTS y $r^2 = 0.90$ para el ensayo con el radical DPPH. Los resultados indican que el procesamiento térmico disminuye el contenido de compuestos fenólicos totales y las actividades antioxidantes se encontraron en un intervalo de 36.8% a 77.6% contra el radical ABTS y de 19.5% a 44.2% contra el radical DPPH.

Zhañay²³, en el año 2012, en su trabajo de investigación titulado relación entre la actividad antioxidante, y concentración de compuestos fenólicos contenidos en el fruto del pungal (*solanum crinitipes*), buscó comparar la cantidad de compuestos fenólicos extraídos en diferentes solventes y su actividad antioxidante. Empleando un método experimental deductivo, utilizando frutos de pungal (*Solanum crinitipes*). Acetona, Etanol, Metanol y Agua relación 1 g de planta 10 ml de solvente los ensayos se efectuaron por espectrofotometría uv-visible en el laboratorio de análisis instrumental; Facultad de Ciencias; Escuela Superior Politécnica de Chimborazo periodo de junio a Julio del 2012. Para cuantificar los compuestos fenolicos se elaboró una curva de calibración con ácido gálico. Para valorar la actividad antioxidante se realizó el método de inhibición de la oxidación enzimática de la polifenoloxidasas de la manzana. Obteniendo los siguientes resultados: Metanol 6.61% fenoles, 80% inhibición; Etanol 9.25% fenoles, 74.78% inhibición; Agua 18.95% fenoles, 60% inhibición y Acetona 3.93% fenoles, 9.57% inhibición. Estos datos fueron analizados estadísticamente mediante la aplicación del programa G-Stat 2.0 usando el método ANOVA un factor comparaciones múltiples. Método: Tukey HSD al 95.00% de sensibilidad. Concluyendo el extracto Metanólico y Etanólico poseen una actividad similar son grupos homogéneos, y el extracto de menor desempeño es el acetónico la relación es directamente

proporcional entre concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante.

Bonilla⁵, evaluó en el año 2011, la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de carrasquilla (*berberis hallii*) sobre *escherichia coli* ATCC 9637, *Candida albicans* ATCC 10231, *pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, *staphylococcus aureus* ATCC 6538, utilizando el método de Mitscher, a las concentraciones de 10.000, 1000 y 100 (ug/mL) y determino que el extracto no tiene actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 9637, *Candida albicans* ATCC 10231, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Sousa et al.⁸, en el año 2007, determinaron en su trabajo de investigación titulado fenoles totales y actividad antioxidante de cinco plantas medicinales. En este estudio se cuantificaron los fenoles totales y actividad antioxidante mediante el método espectrofotométrico 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) contenido en el extracto etanólico de hojas, raíces y corteza de cinco plantas medicinales: *Terminalia brasiliensis* Camb, *Terminalia fagifolia* Mart. & Zucc., *Copernicia cerifera* (Miller) HE Moore, *cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire y *Qualea grandiflora* Mart. El total fenólico contenido en los extractos fue determinado por el método de Folin – Ciocalteu, varía desde $250.0 \pm 8,2$ hasta $763,63 \pm 13.03$ mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto seco. Se utilizó el agente antioxidante 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). El extracto de corteza de *T. brasiliensis* fue el más activo, con un valor de CI_{50} de $27,59 \pm 0,82$ μ g / ml, fue comparable a la rutina ($CI_{50} = 27,80 \pm 1,38$) y ácido gálico ($CI_{50} = 24,27 \pm 0,31$), utilizado como los controles positivos. La relación entre el contenido fenólico total y la actividad antioxidante fue significativa y positiva para *T. brasiliensis*, *C. macrophyllum* y *C. cerifera*.

Carpio y Figueroa³⁷, en el año 2017, su investigación titulada, efecto de la adición de goma arábica y maltodextrina en el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante en extracto de sancayo (*Corryocactus brevistylus*) liofilizado. Se preparó en total 9 muestras de extracto de sancayo (*Corryocactus brevistylus*) con una concentración de goma arábica y maltodextrina al 0.5%, 1% y 2% (P/V), en concentraciones diferentes MD75%/GA25%; MD50%/GA50%; MD25%/GA75% (P/P) y 1 muestra patrón solamente extracto de sancayo liofilizado. Se determinó el contenido de Fenoles Totales mediante el método de Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante mediante el método de DPPH (1,1-Diphenyl-2-

Coavoy³⁰, en el año 2015, en su trabajo de investigación titulada evaluación de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos de la tuna morada (*Opuntia ficus-indica*), esta investigación fue para evaluar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos de la tuna morada (*Opuntia ficus-indica*) del distrito de San Bartolomé, Huarochirí, Lima., para lo cual fueron consideradas las siguientes variables: concentración de etanol (40% y 80%) y temperatura (30°C y 60 °C) en relación al contenido de fenoles totales (mg ácido gálico/L de muestra) y porcentaje de la capacidad antioxidante. El desarrollo de los experimentos se realizó según el diseño factorial 22 con 3 puntos centrales. Se caracterizó físicoquímicamente a la tuna morada obteniendo un pH de 6.61, una acidez de 0.06 g. de ácido cítrico/100 mL muestra, 11.67°Brix y un índice de madurez de 182.86 ± 8.96 . La cuantificación de fenoles totales fue realizada de acuerdo al método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante según el método de DPPH. El mayor contenido de compuestos fenólicos fue de 1002.47 mg ácido gálico/L de muestra y con una capacidad antioxidante del 40.18% a una concentración de etanol de 80%, y a una temperatura de 60°C.

6

percolación. Se utilizó hojas de *Achyrocline alata* DC. (Huira-Huira) previamente estabilizadas, desecadas y pulverizadas. A partir de las hojas pulverizadas, se preparó extractos metanólicos por dos métodos de extracción (Soxhlet y percolación), obteniéndose un porcentaje de rendimiento de 29.41 % para el extracto metanólico obtenido por el método de Soxhlet y de 19.72 % por el método de percolación. Se realizó corridas cromatográficas en capa fina con el fin de identificar los posibles metabolitos secundarios presentes en el extracto metanólico de las hojas de Huira- Huira, lo cual antes se realizó el fraccionamiento a partir del extracto metanólico obtenido por el método de Soxhlet, con disolventes de diferente polaridad empezando de solventes de menor polaridad hasta llegar a solventes de mayor polaridad (hexano, acetato de etilo y n-butanol), los posibles metabolitos secundarios que se logró identificar son ácido fenólicos (ácido caféico y ácido clorogénico) encontradas en las tres fracciones, flavonoides (flavonas y flavonoles) presentes solo en dos fracciones n- butanol y acetato de etilo, taninos (taninos hidrolizables) presente solo en la fracción n-butanol, saponinas (saponinas esteroidales) solo en fracción n-butanol y cumarinas (hidroxicumarinas y furanocumarinas) presente en las 3 fracciones. El contenido de compuestos fenólicos totales por el método de folin- ciocalteu fue mayor en el extracto metanólico obtenido por el método de percolación siendo de 225.88 mg GAE/100 g de extracto y menor el contenido de fenoles totales en el extracto metanólico obtenido por el método de Soxhlet siendo de 155.64 mg de GAE/100 g de extracto. Finalmente, se determinó la capacidad antioxidante mediante el método de CUPRAC, donde la mayor capacidad antioxidante se dio en el extracto metanólico obtenido por el método de percolación siendo de 412.60 μmol equivalente de ácido ascórbico/100 g de extracto y la menor capacidad antioxidante se dio en el extracto obtenido por el método de Soxhlet siendo de 281.91 μmol equivalente de ácido ascórbico/100 g de extracto. La mayor capacidad antioxidante y cantidad de compuestos fenólicos totales fue en el extracto metanólico obtenido por el método de percolación, hallándose una diferencia significativa frente al método de Soxhlet

Acuña y Cusi⁶, en el año 2013, realizaron el estudio fitoquímico cualitativo, actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de las partes aéreas de *berberis boliviiana lechler* (Cheqche), en un modelo experimental inducido químicamente por pentilentetrazol en animales de experimentación. Para evaluar la actividad anticonvulsivante con el modelo de convulsión química inducida por pentilentetrazol (PTZ 85 mg/kg vía intraperitoneal), usando como metodología un

cuasiexperimental. Utilizaron 5 grupos de 6 ratones Bald/c/CNPB; grupo 1 (control), grupo 2 (diazepam 1mg/kg) y grupo 3, 4, 5 (400, 800 y 1200 mg/kg de extracto acuoso). El tratamiento fue por vía intraperitoneal 30 minutos antes de la inducción de las convulsiones. Se midió el período de latencia para la primera convulsión clónica, la duración de las convulsiones, número de convulsiones que duran por lo menos 3 segundos y la protección frente a la mortalidad. Para la prueba de toxicidad aguda por vía oral se utilizaron 12 ratones albinos, para la primera fase a dosis de (10, 100 y 1000 mg/kg de extracto acuoso) y 3 ratones por grupo, para la segunda fase a dosis de (1600, 2900 y 5000 mg/kg de extracto acuoso) y un ratón por grupo. Resultados: Se evidenció la presencia de compuestos fenólicos, alcaloides, taninos, cumarinas, quinonas, lactonas, glicósidos, aminoácidos, saponinas, flavonoides y resinas. Se observó que los extractos acuosos de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L.(Cheqche) a las dosis de 400, 800 y 1200 mg/kg incrementaron el período de latencia en 60,67%, 73,13% y 88,70%, disminuyeron la duración de las convulsiones en 21,85%, 45,23% y 52,22%, disminuyeron el número de convulsiones que duran por lo menos 3 segundos en 36,11%, 66,67% y 80,56%; con respecto al grupo control y la protección frente a la mortalidad fue de 33,3%, 50,0% y 100,0% (ANOVA $p < 0,05$). El valor de la DL_{50} del extracto acuoso por el método de Lorke es mayor a 5000 mg/kg.

Muedas³², en el año 2013, en su trabajo de investigación titulada estudio químico y de actividad antioxidante de la *Bauhinia guianensis* var. *kuntiana* Aubl. La evaluación de la actividad antioxidante de la especie vegetal se realizó aplicando dos métodos: el método químico, mediante la neutralización del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH) y el método electroquímico, empleando la voltametría cíclica. De la separación, guiada por la actividad antioxidante, de la fracción AE de la *Bauhinia guianensis* var. *kuntiana* Aubl., se aisló el compuesto con mayor actividad, la 5,7,3',4'-tetrahidroxiflavanona (eriodictiol) con $p.f = 216^{\circ}C$, quien ha sido identificado mediante sus espectros IR, UV, EM, RMN 1H , RMN ^{13}C , 1H - 1H COSY y 1H - ^{13}C HETCOR. El flavonoide eriodictiol aislado presentó la mayor actividad antioxidante, de 90,42 % a la concentración de 10 $\mu g/mL$ y un potencial de oxidación a $\epsilon_{pa} 0,206 V$. El valor determinado para su EC_{50} fue de 1,81 $\mu g/mL$, lo que indica que a muy baja concentración presenta buena actividad antioxidante y es comparable con los estándares rutina y quercetina. Se encontró la relación entre estructura – actividad – potencial redox del principio activo

responsable de la actividad antioxidante en la especie. El grupo catecol (dos -OH adyacentes) en el compuesto, es el responsable de la mayor actividad antioxidante a un menor potencial de oxidación.

Berrocal⁴⁷, en el año 2018, en su investigación titulada, contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", La cuantificación de fenoles totales y flavonoides totales fue realizada de acuerdo al método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu y cloruro de aluminio respectivamente; el contenido de fenoles totales y flavonoides totales fue de $177,0 \pm 0,42$ mg GAE/g de muestra y $45,6 \pm 0,13$ mg RuE/g de muestra respectivamente. La determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga" fue mediante los ensayos de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y ABTS (2,2- Azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfónico). La concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga" sobre el radical DPPH y ABTS fueron de $228,8 \pm 0,36$ y $544,8$ µg/mL respectivamente.

Villanueva²², en el año 2014, en su investigación titulada contenido de betalaínas y determinación de la actividad antioxidante de accesiones de *Chenopodium quinoa* Willd "quinua", se analizó el contenido de betalaínas y la actividad antioxidante de las accesiones de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua" del distrito de Tambillo- Ayacucho, mediante los espectros UV-visibles de absorción, cromatografía en capa fina (TLC) y DPPH, respectivamente. Los extractos etanólicos de quinua revelaron la presencia de compuestos fenólicos mas no de betalaínas de acuerdo a los espectros UVvisibles de absorción que presentaron valores entre 207 a 300 nm y a la TLC por el color de manchas reveladas con luz UV y cloruro férrico al 5%. Los mayores porcentajes de capacidad antioxidante fueron a la máxima concentración evaluada de 300 ug/mL a los 30 minutos, correspondientes a las accesiones: 24 (roja) con 55,61 %; 22 (negra) con 54,84%, 4 (blanca) con 52,01%, 25 (roja) con 53,88% y 6 (negra) con 50,34%; congruentes a los de IC₅₀ (ug/mL) con 224,51; 228,44; 255,04; 238,13 y 285,99 ug/mL respectivamente, que obtuvieron los valores más bajos lo cual indica que requirieron menor concentración de extracto para reducir en 50 % al DPPH. Por lo tanto estas accesiones ostentan de mayor y mejor capacidad antioxidante entre las accesiones estudiadas. Las accesiones de quinua estudiadas con las técnicas del espectro UV-visible y cromatografía en capa fina, utilizando extracto etanólico

no contienen betalaínas, sólo compuestos fenólicos a los cuales se le atribuye la capacidad antioxidante.

Valdez⁴⁵, en el año 2014, en su trabajo de investigación titulada contenido de fenoles totales y flavonoides totales en *Oenothera rosae* Ait “yawar suqu”, *Bacharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl “matico”. El extracto hidroalcohólico se obtuvo mediante el método Soxhlet. El contenido de flavonoides totales y fenoles totales se realizó mediante los métodos de Folin-Ciocalteu y Singletón y Rossi, respectivamente. Se compara el contenido de fenoles y flavonoides totales de las tres muestras, en equivalentes de ácido cafeico y quercetina. *Bacharis salicifolia* R&P “chilca”, presentó 12,62%, *Oenothera rosae* Ait “yawar suqu” 6,42% y *Piper elongatum* Vahl “matico” 3,88% de fenoles totales. El contenido de flavonoides de *Oenothera rosae* Ait “yawar suqu” 8,32%, *Piper elongatum* Vahl “matico” 6,21% y *Bacharis salicifolia* R&P “chilca” 9,96%. Siendo así que la “chilca” presentó mayor contenido de los componentes en estudio.

León⁴⁶, en el año 2012, en su investigación titulada actividad antioxidante de los ácidos fenólicos aislados de las hojas de *Satureja brevicalix* Epling “wayra muña”. El aislamiento de los ácidos fenólicos se realizó por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). La actividad antioxidante se determinó mediante el ensayo de captación de radicales libres DPPH. Se logró identificar al ácido cafeico, clorogénico, ferúlico y rosmarínico mediante espectros ultravioleta, infrarrojo y corroborado por la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), siendo el ácido rosmarínico el más importante. Los ácidos fenólicos demostraron tener capacidad antioxidante similar a la vitamina C, ácido ferúlico, cafeico, y clorogénico, no hallándose diferencias significativas entre ellos, pero sí a las concentraciones ensayadas. Se concluye que el ácido rosmarínico es el principal ácido fenólico aislado, seguida del ferúlico, del clorogénico y trazas del ácido cafeico, quienes demostraron capacidad antioxidante dependiente de su concentración y de su estructura química.

Quispe⁷, en el año 2007, investigó sobre la actividad antioxidante, fenoles totales y antocianinas en el fruto y néctar de airampo (*Berberis weberbaueri* C. Scheneider). Para la cuantificación de la actividad antioxidante se utilizó el DPPH, para la cuantificación de fenoles totales se utilizó el reactivo de Folin - Ciocalteu y en el caso de las antocianinas se realizó la extracción y cuantificación en medio alcohólico. El fruto de airampo posee un alto contenido de actividades antioxidantes (20801,094 µg. equivalente trolox/g. tejido), fenoles totales

(14979,205 mg equivalente de ácido clorogénico/100g de muestra) y antocianinas (552,382 mg/100 g bh), comparado con los resultados obtenidos en la cuantificación de actividad antioxidante, fenoles totales y antocianinas en la guinda, mora, saúco, higo, uva negra, ciruela, granada. Para elaborar el néctar de airampo se realizaron ensayos preliminares. Durante el procesamiento se cuantificaron la actividad antioxidante, fenoles totales y antocianinas en las siguientes operaciones: La pulpa de airampo contiene 20288,111 µg equivalente trolox/g tejido de actividad antioxidante, de fenoles totales tiene 11662,185 mg equivalente ácido clorogénico/100 g de muestra y de antocianinas 453,955 mg/100 g bh.

2.2. Familia Berberidaceae

La familia Berberidaceae, pertenece al orden de la Ranunculales, está conformada por 15 géneros y 650 especies distribuidas en ambos hemisferios. Incluye cuatro subfamilias: Berberidoideae, que agrupa 6 géneros, siendo los más representativos *Berberis* y *Mahonia*; Podophylloideae, Leonticoideae y Nandinoideae, esta última se caracteriza por ser rica en alcaloides bencilisoquinolínicos y en compuestos como nandinina, amentoflavona y benzaldehído-4-O-glucósido²⁴.

2.2.1. Química

La familia Berberidaceae contiene principalmente compuestos de tipo isoquinolina, lignano y flavonoide. Su composición química característica muestra alcaloides derivados de la L-tirosina, siendo la berberina el compuesto más representativo de los alcaloides de tipo isoquinolínico presentes en esta familia; especialmente en los géneros *Berberis* y *Mahonia*²⁴.

2.2.2. Genero *Berberis*

El género *Berberis* cuenta con más de 500 especies distribuidas en ambos hemisferios. Este género está dividido en 4 grandes subgrupos de acuerdo a su ubicación geográfica y a la combinación de caracteres morfológicos: Septentrionales, Australes, Occidentales y Orientales; los dos primeros subgrupos corresponden a especies con hojas simples, Septentrionales como Euroasiáticas, con excepción de 2 especímenes en Norte América y 4 en el norte de África; las Australes, están divididas en 2 subgrupos Aequinoctiales, al cual pertenecen las *Berberis* colombianas y *Euaustales*, que son exclusivamente del sur de Sud América; las Occidentales se encuentran en Norte y Centro América y las

Orientales, en el Sureste asiático, con excepción de la especie *B. nervosa* originaria de Norte América²⁴.

2.2.3. Usos

Las especies del género *Berberis* se caracterizan por presentar una morfología variada con una coloración amarilla característica en su madera, raíz y corteza; tradicionalmente usada para dar coloración a los textiles; sus frutos son comestibles, fermentados para producir bebidas alcohólicas y en culinaria. En medicina tradicional se emplea para el tratamiento de enfermedades del sistema circulatorio, especialmente la raíz como hemostático y febrífugo, la infusión de las flores se utiliza para tratar la anemia y sus síntomas, para el sistema linfático como diurético, tónico y diaforético, para el sistema digestivo en el tratamiento de disentería amebiana, como purgante y analgésico²⁴.

2.3. Aspectos Botánicos de *Berberis boliviana* Lechl.

Tabla 1. Clasificación taxonómica *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”.

DIVISIÓN	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	MAGNOLIDAE
ORDEN	RANUNCULALES
FAMILIA	BERBERIDACEAE
GÉNERO	<i>Berberis</i>
ESPECIE	<i>Berberis boliviana</i> Lechl.
N. V.	“tankar” o “airampu”

Fuente: Constancia emitida por la bióloga Laura Aucasime Medina especialista en taxonomía y sistemática de plantas.

2.3.1. Descripción botánica

Según la descripción botánica dada por Landrum. Las especies del género *Berberis* son arbustos perennes o de hoja caduca, que crecen entre 1 y 5 metros de altura. Presentan hojas que varían en forma y tamaño, dependiendo de la especie⁹.

El nombre científico de esta planta (*Berberis*) deriva del griego y se debe a la forma y característica de sus flores, de color amarillo intenso¹².

Una de las características botánicas importantes es la presencia de espinas en las hojas o tallos de los arbustos, las cuales varían en su morfología. Las flores y frutos se pueden encontrar solos o en agrupaciones de racimos o umbelas. Las flores usualmente son de color amarillo, naranja o rojo anaranjado. El perianto típicamente presenta 5 a 6 verticilos de 3 tépalos, los dos verticilos internos

presentan dos glándulas nectaríferas en la superficie interna más baja, él o los verticilos restantes se encuentran hacia el exterior y son algo más grandes. Los frutos son de color púrpura oscuro, azulados o negros y a veces están cubiertos de una capa cerosa⁹.

Arbustos o subarbustos erguidos o decumbentes, generalmente con 3, raro 4-5 espinas divergentes en cada nudo, rectas o retrorso curvadas. Ramas con leño color amarillo intenso¹⁰.

Las flores aparecen entre abril y junio, son pequeños y amarillos, agrupadas en pequeños racimos colgantes. Los frutos es posible encontrarlos en meses de mayo y junio¹³.

2.3.2.Distribución geográfica

Berberis es un género de distribución cosmopolita con alto número de representantes en Sud América y algunos pocos en el nororiente de África. Cabe recalcar la ausencia de especies en Australia y Nueva Zelanda. En Sur América se encuentran alrededor de 178 especies de *Berberis* distribuidas desde Venezuela, Chile y Argentina⁷.

Su habitat natural es el clima continental de montaña, nace en forma natural en espinares, zonas abiertas, en lindes de los campos y suelos calizos y pedregosos¹³.

Es un arbusto silvestre que se desarrolla en algunas zonas altoandinas entre los 2500 y 4500 msnm¹¹.

2.3.3.Usos tradicionales

La *Berberis* además de propiedades medicinales, ha gozado de interés en el sector de la alimentación, textil y jardinería. Con sus frutos maduros se preparaban bebidas refrescantes de sabor agridulce, de llamativo color rojizo, además de confituras y helados. Sus flores son excelentes para la producción de miel.¹⁵

Muchas especies de este género son adecuadas en jardinería para la formación de setos. Los tintoreros la aprecian por sus raíces, que son sangradas para extraer el líquido de intenso color amarillo con que teñir tejidos¹⁵.

En la época incaica fue utilizada como una planta con múltiples funciones y usos, principalmente en la medicina tradicional. Es una importante fuente de minerales y vitaminas. Asimismo, es un efectivo febrífugo, laxante y tónico. La infusión de las hojas se utiliza contra el nerviosismo. La infusión de las flores actúa contra el cansancio y la anemia. La infusión de la raíz combate la disentería amebiana. La infusión de la raíz machacada estimula la retención de orina¹¹.

2.3.4. Composición química

El género *Berberis* se caracteriza por la presencia de alcaloides, a los que se les atribuyen muchas de las propiedades medicinales que presentan estas especies¹⁴.

Las especies del género *Berberis* producen un ordenamiento muy especial de alcaloides, los que en su mayoría constan de una estructura base isoquinolínica y derivan biogénicamente del aminoácido tirosina. Los ordenamientos que se mencionan se pueden clasificar en protoberberinas, aporfinas, encilisoquinolinas, proaporfinas, protopinas, pavinas, benciltetrahydroisoquinolinas y dímeros (bis) bencilisoquinolínicos (BBI), entre otros¹⁴.

Los alcaloides pertenecientes a los grupos BBI y protoberberinas permanecen como los constituyentes predominantes en las *Berberis*¹⁴.

Los alcaloides protoberberínicos existen en el género *Berberis* como sales cuaternarias o como tetrahydroprotoberberinas, siendo berberina el principal representante de este grupo de alcaloides y el constituyente común de todas las especies de *Berberis*¹⁴.

2.4. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos están en la naturaleza ampliamente distribuidos en el reino vegetal, todos ellos presentan un anillo aromático en común que puede estar unido a grupos hidroxilos libres y combinados en forma de éster, éter, heterósidos, etc. La formación de este núcleo aromático se realiza por vegetales microorganismos. Mientras que su presencia en animales se debe a la ingesta del vegetal¹⁶.

Las estructuras fenólicas son metabolitos secundarios que pueden proceder de la ruta del ácido shikímico como fenoles sencillos, ácidos fenólicos (benzoicos, cinámicos, etc), cumarinas, lignanos, flavonoides, antocianos y taninos; y otros que proceden de la ruta de los acetatos o la ruta del ácido mevalónico como antraquinonas y heterósidos antracénicos¹⁷.

En los últimos años se han acumulado evidencias de que algunos compuestos fenólicos ingeridos en la dieta habitual pueden reducir las incidencias de enfermedades cardiovasculares y de algunos tipos de cánceres. De hecho, varias organizaciones internacionales del ámbito de la nutrición como la OMS, recomiendan un consumo diario de antioxidantes, como los compuestos fenólicos, principalmente a través de frutas y verduras, con el fin de prevenir o acentuar patologías asociadas al estrés oxidativo¹⁸.

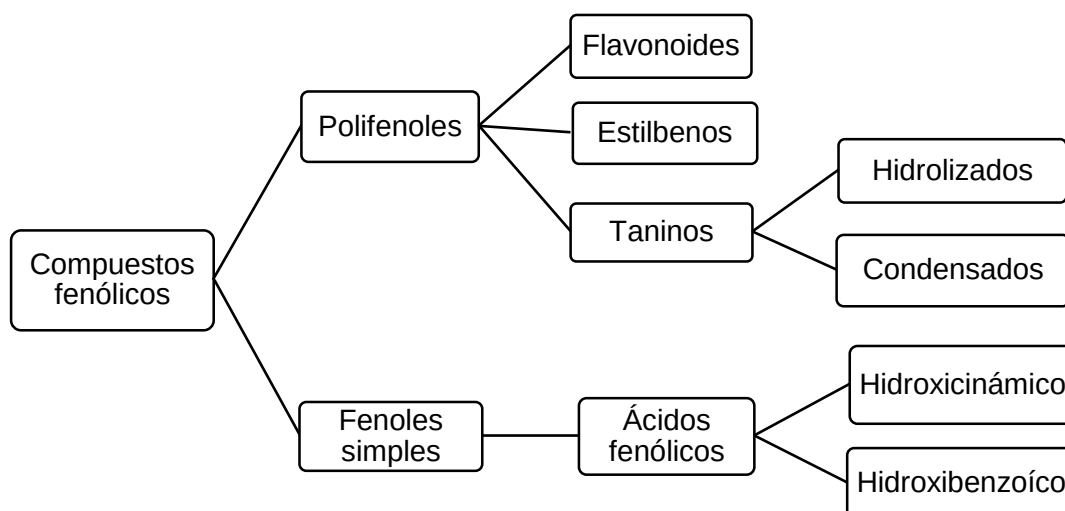


Figura 1. Clasificación de los compuestos fenólicos^{21,22}.

La actividad antioxidante se debe a la presencia del ortodiol o catecol en la estructura de los diversos compuestos, esto les da la capacidad de quelar metales, interceptar radicales libres y modular la actividad enzimática²².

Algunos de los principales efectos biológicos que les confieren actividad antioxidante son:

- Suprimen la oxidación de lipoproteínas de baja densidad.
- Presentan antagonismo hacia receptores carcinogénicos.
- Modulan la secreción de las citocinas, así como la expresión de las cinasas proteicas en la proliferación de tumores.
- Inducen la expresión de enzimas anticarcinogénicas o inhiben la inducción de enzimas promotoras de cáncer
- Tienen propiedades antiinflamatorias, antibacterianas y antifúngicas.

La mayoría de los polifenoles presentes en alimentos están en sus formas conjugadas, los fenoles libres se encuentran únicamente en tejidos muertos.

Los flavonoides que incluyen a las flavanonas, flavonoles y taninos condensados, funcionan como quelantes de metales, atrapan radicales libres, inhiben la xantina-oxidasa asociada a la formación de especies reactivas del oxígeno y la proliferación de células cancerígenas en pulmones, estómago y colon, además, previenen enfermedades coronarias. Los flavonoles se distribuyen en sus formas sin conjugar lo que les da una significancia metabólica²².

2.4.1. Estructura química de los fenoles

El término fenoles comprende aproximadamente 8000 compuestos que aparecen en la naturaleza. Todos ellos poseen una estructura común: un anillo fenol un anillo aromático que lleva al menos un sustituyente hidroxilo²³.

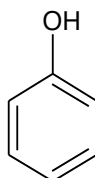


Figura 2: Estructura básica del fenol

2.4.2. Ácidos fenólicos

Los compuestos tienen una función carboxílica y un grupo hidroxílico fenólico, estos compuestos derivan del ácido benzoico (vanillina, ácido verátrico, ácido anísico, ácido gálico) y del ácido cinámico (clorogénico, cafeico, ferúlico y sináptico, p-cumarico, elágico)¹⁶.

2.4.3. Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana¹⁹.

Existe un consenso de que la actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelatantes de hierro y secuestradoras de radicales libres (RL). Otros autores se refieren además a la inhibición de oxidasas, como la lipoxigenasa (LO), la ciclooxigenasa (CO), la mieloperoxidasa (MPO), la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa (XO); evitando la generación de especies reactivas del oxígeno (ERO) *in vivo*, así como de hidroperóxidos orgánicos. Por otra parte, se ha podido conocer que también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2 (FLA2), al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, la catalasa (CAT) y la superóxido dismutasa (SOD). De esta forma los flavonoides interfieren en las reacciones de propagación de RL y en la formación del radical en sí²⁰.

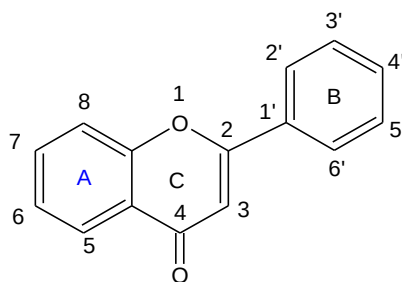


Figura 3: Núcleo básico de los flavonoides²⁵.

2.4.3.1. Clasificación de flavonoides

Las variaciones estructurales en los anillos permiten subdividir a los flavonoides en seis subclases: flavonas, flavonoles, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas, flavanoles²⁶.

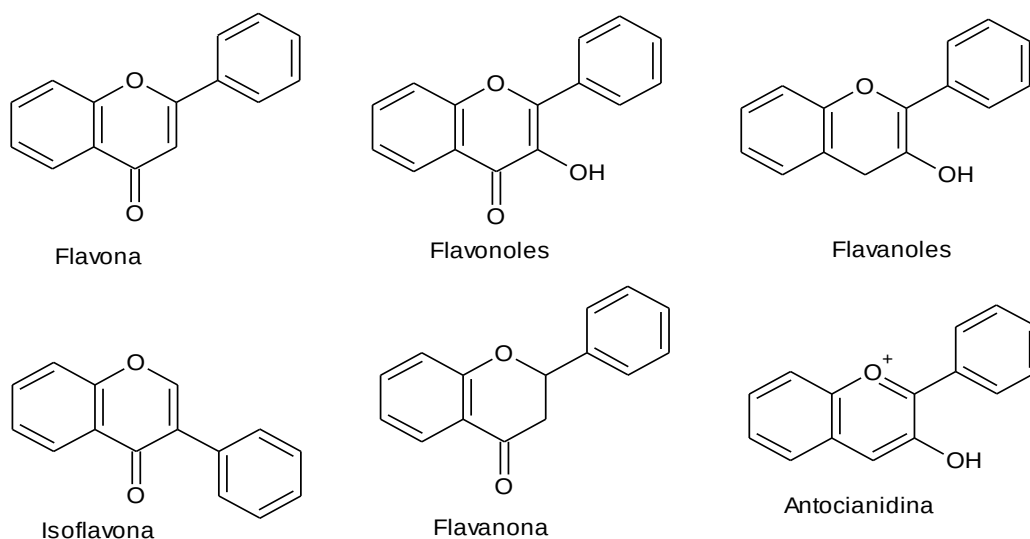


Figura 4: Estructura química de los flavonoides²⁶.

2.5. Radicales Libres

Los radicales libres (RL) son átomos o grupos de átomos que tienen uno o más electrones desapareados lo cual los hace altamente inestables y reactivos. Estos radicales recorren nuestro organismo deseando robar un electrón de las moléculas estables, con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica por medio de reacciones de óxido-reducción²⁸.

Una vez que el RL ha conseguido robar el electrón que necesita para aparear su electrón libre, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un nuevo RL, por quedar con un electrón desapareado; iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células; estas reacciones en cadena

se combaten con la acción de los antioxidantes, los cuales neutralizan los átomos de oxígeno. La vida biológica media del RL es de microsegundos; pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un estrés oxidativo que puede conducir a diversas enfermedades, tales como envejecimiento, problemas del sistema cardiovascular (arterosclerosis), problemas en el sistema nervioso, daño genético (mutaciones y cánceres)²⁸.

2.6. Estrés oxidativo

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen un desbalance entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado; por lo tanto, se reconoce como mecanismo general de daño celular, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de un número creciente de entidades y síndromes de interés médico-social, involucrado en la génesis y en las consecuencias de dichos eventos²⁷.

2.7. Antioxidantes

Una sustancia que encontrándose a bajas concentraciones respecto a la de un sustrato oxidable, actúa antes o durante una reacción en cadena de los radicales libres, ya sea en la etapa de iniciación, propagación, terminación, descomposición o en la subsecuente oxidación de los productos. Los antioxidantes que se encuentran naturalmente en el organismo y en ciertos alimentos; previenen el daño derivado del estrés oxidativo generado por diferentes sustancias que ingresan al cuerpo liberando radicales libres que afectan el comportamiento celular. Son sustancias que tienen la capacidad de inhibir la oxidación causada por los radicales libres, actuando algunos a nivel intracelular y otros en la membrana de las células, siempre en conjunto para proteger a los diferentes órganos y sistemas. En los últimos años el interés por los antioxidantes naturales se ha incrementado notoriamente, debido principalmente a tres razones: 1) la baja seguridad que ofrece el consumo de antioxidantes sintéticos, 2) la eficacia antioxidante de una variedad de agentes fitoquímicos, y 3) la idea generalizada de que el consumo de ciertos agentes fitoquímicos pueden afectar de manera positiva la patología de las enfermedades crónicas y el proceso de envejecimiento; además, la creencia de que los compuestos naturales son innatamente más

seguros que los compuestos sintéticos y por consiguiente son comercialmente más aceptados²⁹.

Dentro de este tipo de compuestos antioxidantes se encuentran los compuestos fenólicos que son compuestos asociados al color, a las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), características nutritivas de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol³⁰.

En particular, los antioxidantes naturales (hidrosolubles y liposolubles) pueden funcionar como compuestos reductores, interrumpen la formación de radicales libres, inhiben la formación de oxígenos libres e inactivan los metales pro-oxidativos. Los radicales libres se forman en el organismo mediante la respiración aeróbica y existen en diferentes formas como: anión superóxido, hidroxilos, peróxidos, y alcóxilos³¹.

2.7.1. Antioxidantes naturales:

- Superoxido dismutasas (SOD): enzima que se encuentra dentro de las células remueve los radicales superoxidos.
- Catalasa: esta enzima remueve el peróxido de hidrogena, formando por la acción de las deshidrogenas. Se encuentra en sangre, medula ósea, mucosas, riñón e hígado.
- Glutación peroxidasa: Esta enzima intracelular contiene selenio, remueve el radical peróxido y los hidroperóxidos lipídicos por el glutatión reducido protegiendo a los lípidos de la membrana de la hemoglobina contra la oxidación de estos radicales³⁴.

2.7.2. Antioxidantes sintéticos:

- Ácido ascórbico (vitamina C): Antioxidante soluble en agua, figura en primera línea en la defensa antioxidante del plasma; es un poderoso inhibidor de la oxidación de los lípidos.
- Citroflavonoides: Su uso es eficaz en conjunción con la vitamina C a la que aumenta su capacidad antioxidante. La hesperidina y la rutina son dos de ellos.
- Tocoferol (vitamina E): Principal antioxidante soluble en lípidos previene la oxidación de grasas; aumenta su acción en presencia de zinc.
- Beta caroteno (provitamina A) y Vitamina A, el beta caroteno se convierte en nuestro organismo en la vitamina A, es un poderoso antioxidante liposoluble.
- Selenio: Es uno de los antioxidantes más importantes³⁴.

2.7.3. Antioxidantes primarios

Los antioxidantes primarios son aquellos que previenen la formación de nuevas “Especies Reactivas de Oxígeno” (ERO) y las transforman en otras menos perjudiciales antes de que reaccionen. En este grupo se destacan las enzimas superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPX), ferritina, ceruloplasmina de tipo ferroxidasa y catalasa ²⁹.

2.7.4. Antioxidantes secundarios

Capturan los radicales y evitan las reacciones en cadena. Algunos ejemplos de ellos son la vitamina E y C, β -caroteno y sustancias endógenas con capacidad antioxidante, entre las que se encuentran el glutatión urato, bilirrubina, ubiquinona, albúmina y ácido úrico²⁹.

2.7.5. Antioxidantes terciarios

Los antioxidantes terciarios son los encargados de la reparación de las biomoléculas dañadas. Se incluyen las enzimas endonucleasa apurínica/apirimidínica y polimerasa β , reparadoras del ADN y la metionina sulfóxido reductasa²⁹.

2.8. Medición de la actividad antioxidante

Existen numerosos métodos para medir la capacidad antioxidante de los compuestos, los que se clasifican en dos categorías:

La primera, mide la inhibición de la oxidación en un sistema modelo por monitoreo a los cambios asociados usando medios físicos, químicos o instrumentales.³²

La segunda, involucra a los ensayos captadores de radicales, los cuales incluyen métodos basados en mecanismos de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) o transferencia de electrones (ET). Los ensayos ORAC (capacidad de absorber radical oxígeno) y TRAP (parámetro antioxidante que atrapan los radicales totales), son los mejores métodos utilizados para medir el HAT. Los ensayos TEAC (capacidad antioxidante equivalente a Trolox), FRAP (poder antioxidante reductor férrico) y el DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil) representan a los métodos basados en ET³².

2.8.1. Método DPPH

El método DPPH es el método de neutralización del radical libre 2,2-difenildipicrilhidracil. El radical libre y estable DPPH, es una sustancia que mide la capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidante. Este método es empleado para sustancias liposolubles o hidrosolubles ^{30,33}.

La solución del reactivo de DPPH es de color violeta y con una absorción de 515 nanómetros. La reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (antioxidante) por el radical libre DPPH, desarrollando un cambio del color violeta a amarillo, al disminuir la concentración del radical libre. El grado de este decoloramiento indica la habilidad del antioxidante de secuestrar al radical libre; el que se lee en el espectrofotómetro después de veinte a treinta minutos de la reacción^{30,32}.

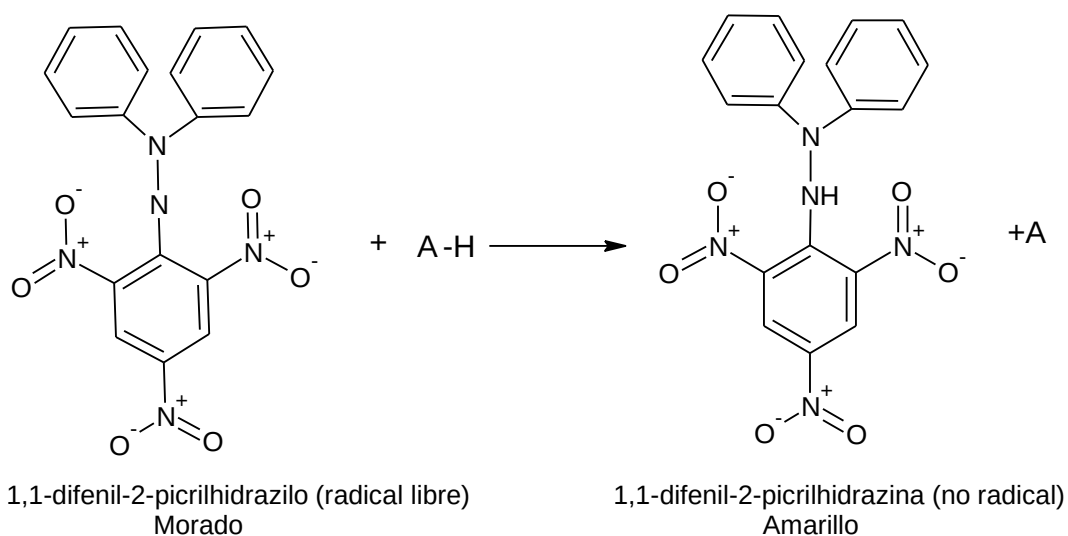


Figura 5. Mecanismo de reacción del DPPH con sustancias antioxidantes (AH)^{16,19}

El dato se expresa normalmente como concentración media inhibitoria (CI₅₀), es decir, la concentración del antioxidante necesaria para inhibir el 50% de los radicales DPPH en un periodo.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del trabajo de investigación

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

3.2. Definición de población y muestra

a. Población

Está constituida por las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, que crecen en zonas altas, del centro poblado de Huascahura, provincia Huamanga, departamento de Ayacucho.

b. Muestra

Está constituida por 1 kilo de hojas frescas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, que fueron recolectadas en la comunidad de Huascahura en horas de la mañana en el mes de junio, realizando muestreo por conveniencia.

3.2.1. Unidad de análisis

5 g de extracto atomizado de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”.

3.2.2. Sistema de muestreo

Libre por conveniencia

3.3. Metodología y recolección de datos

3.3.1. Recolección e identificación de la muestra vegetal

Las muestras de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, fueron recolectadas en horas de la mañana, seleccionadas, lavadas y secadas a temperatura ambiente, en un lugar con buena ventilación, cambiando el papel de soporte y removiendo el vegetal para evitar su descomposición, por un periodo de tres semanas según las directrices de la OMS³⁵.

La clasificación de la planta fue realizada por la Blga. Laura Aucasime Medina, de acuerdo al sistema de clasificación de Arthur Cronquist et al., 1981 (Anexo 1).

3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico atomizado

Luego del secado de las hojas se procedió a reducir el tamaño de la muestra utilizando molino de cuchilla, hasta obtener un pulverizado uniforme, luego se pesó 20 g aproximadamente de muestra seca pulverizada, el cuál fue llevado a un frasco ámbar para su maceración, cubriéndolo con alcohol etanol de 50 grados, hasta una altura de 1- 2 cm por encima de la muestra, por un periodo de 24 h. Después se colocó en un percolador durante 24 h. adicionales, posteriormente se dejó salir el percolado a razón de 20 gotas por minuto (agregando continuamente el solvente) y posteriormente fue filtrada para evitar polvillo.

Luego se procedió a concentrar la muestra en el baño maría a una temperatura de 40° C, hasta reducir el grado alcohólico entre 7-10 grados para proceder con la atomización.

Finalmente, el extracto concentrado se secó, utilizando el atomizador Mini Spray Driver B-290 del CEDACMEF de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. El producto obtenido se envasó en un recipiente ámbar

3.3.3. Identificación de compuestos químicos del extracto hidroalcohólico

La identificación de los diferentes compuestos químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, fueron realizadas siguiendo la metodología de coloración y precipitación³⁶.

- **Ensayo de Shinoda:** Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen³⁶.

El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos³⁶.

- **Ensayo de cloruro férrico:** Permite conocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza en alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9% en agua)³⁶.
Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.

Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos tipo pirocatecólicos.

Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalo-tánicos³⁶.

- **Ensayo de espuma:** Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroideal como triterpénica. De modo que, si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos³⁶.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2mm de altura y persistente por más de 2 minutos³⁶.

- **Ensayo de Lieberman-Burchard:** Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, por ambos tipos de productos poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6³⁶.

Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo disolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de anhídrido acético sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

1-Rosado-azul muy rápido.

2-Verde intenso-visible aunque rápido.

3-Verde oscuro-negro-final de la reacción.

A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos³⁶.

IMPORTANTE: Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente³⁶.

La reacción de Lieberman-Burchard se emplea también para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloración azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes³⁶.

- **Ensayo de Borntrager:** Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo disolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o

amonio al 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++) ³⁶.

- **Ensayo de catequinas:** Para ello, tome de la solución alcohólica obtenida una gota, con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel de filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio. La aparición de mancha verde carmelita a la luz UV, indica un ensayo positivo ³⁶.

- **Ensayo de Baljet:** Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo ³⁶.

Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1 mL). En estas condiciones se adiciona 1 mL, del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++) y (+++) respectivamente ³⁶.

- **Ensayo de Fehling:** Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 mL de agua. Se adicionan 2 mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo ³⁶.

- **Ensayo de Kedde:** Permite reconocer en un extracto la presencia de glicósidos cardiotónicos. Una alícuota del extracto en etanol se mezcla con 1 mL del reactivo y se deja reposar durante 5-10 minutos. Un ensayo positivo es en el que desarrolla una coloración violácea, persistente durante 1- 2 horas ³⁶.

- **Ensayo de antocianidinas:** Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia $C_6C_3C_6$ del grupo de los flavonoides. Se calienta 2 mL del extracto etanólico 10 minutos con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado. Se deja enfriar y se adiciona 1 ml de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agita y se deja separa las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, es indicativo de un ensayo positivo ³⁶.

- **Ensayo de Dragendorff:** Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello, si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, este debe de evaporarse en baño de agua y el residuo redisolverse

en 1 mL de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) y precipitado (+++)³⁶.

- **Ensayo de Mayer:** Proceda de la forma descrita anteriormente, hasta hasta obtener la solución ácida. Añada una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 ó 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, si se observa opalescencia (+), turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++)³⁶.
- **Ensayo de Wagner:** Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma³⁶.

3.3.4. Cuantificación de fenoles totales

La determinación de contenido de fenoles totales se realizó mediante el método de espectrofotometría de Folin-Ciocalteu, para lo cual se usó ácido gálico como el compuesto fenólico de referencia³⁷.

Este método se fundamenta en su carácter reductor y seguida neutralización. Consiste en la mezcla de la muestra a analizar y el reactivo de Folin-Ciocalteu, el cual tiene la capacidad de reaccionar con los compuestos polifenólicos, dando como resultado un cambio de coloración de amarillo a azul, y su intensidad depende del contenido de fenoles presentes en la muestra. Se mide la absorbancia a una longitud de onda de 756 nanómetros en el espectrofotómetro³⁸.

a. Procedimiento

Se tomó 100 µL de las muestras convenientemente diluidas, 500 µL del reactivo Folin – Ciocalteu 1:10, 400 µL de una solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 7,5 %. Se mezcló en un tubo de ensayo y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 765 nanómetros utilizando un espectrofotómetro. El contenido de fenoles totales fue expresado en miligramos de equivalentes de ácido gálico (EAG) por gramo de extracto atomizado, a partir de una curva de calibración del estándar ácido gálico de 10 a 60 µg/mL.

b. Cálculos

Para determinar el valor del contenido de fenoles totales se procedió a realizar una regresión lineal con las absorbancias obtenidas, de tal manera que se obtiene la siguiente ecuación: $y=bx+a$, donde “a” es la intersección y “b” pendiente, para calcular el contenido de fenoles totales se debe reemplazar en el valor

correspondiente en el eje “Y” (absorbancia) y en el eje “X” (concentración ug/mL), posteriormente fueron expresados como mg EAG/g de extracto atomizado.

3.3.5. Cuantificación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales en los extractos atomizados de hojas *Berberis boliviana Lechl.* “tankar” o “airampu”, fue determinado por el método de Gonzales,⁴⁰ Empleando el reactivo de cloruro de aluminio (AlCl_3). Utilizando la rutina como el compuesto flavonoide de referencia.

a. Procedimiento

Se preparó una solución madre de rutina, para ello se pesó 1 mg de rutina, y llevó a un matraz de 25 mL, se disolvió con 2,5 mL de metanol y se aforó a volumen con alcohol etanol de 50 grados.

A partir de la solución del extracto atomizado de hojas *Berberis boliviana Lechl.* “tankar” o “airampu”, se tomaron alícuota de 2 mL y se transferirán a un volumétrico de 5 mL, se adicionó a continuación 0,5 mL del reactivo de cloruro de aluminio (AlCl_3) 2 %. Se completó con alcohol etanol de 50 grados hasta volumen. Después de treinta minutos de incubación a temperatura ambiente, la absorbancia se midió a 415 nanómetros. El contenido de flavonoides totales se calculó como equivalentes de rutina (mg de rutina/g extracto atomizado) a partir de la curva de calibración de este compuesto³⁹.

La curva de calibración se trabajó en un intervalo de concentración de 8-32 $\mu\text{g/mL}$. Las evaluaciones de los extractos del atomizado de las hojas de *Berberis boliviana Lechl.* “tankar” o “airampu”, se realizó por triplicado.

b. Cálculos

Para determinar el valor del contenido de flavonoides totales se procedió a realizar una regresión lineal con las absorbancias obtenidas, de tal manera que se obtiene la siguiente ecuación: $y=bx+a$, donde “a” es la intersección y “b” pendiente para calcular el contenido de flavonoides totales, se debe reemplazar en el valor correspondiente en el eje “Y” (absorbancia) y en el eje “X” (concentración ug/mL), posteriormente fueron expresados como mg ERu/g de extracto seco.

3.3.6. Determinación de la actividad antioxidante

3.3.6.1. Método de radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

Se realizó la evaluación cuantitativa de la actividad antioxidante siguiendo la metodología descrito por Sousa et al.⁸ el seguimiento del consumo de radical DPPH por las muestras, mediante la disminución de la absorbancia de las

soluciones a diferentes concentraciones. Estas mediciones se hicieron en UV-Vis a una longitud de onda de 515 nanómetros, se usó el Trolox como control positivo. Los resultados se expresaron como CI_{50} , % de actividad antirradicalaria, o equivalentes a Trolox.

a. Procedimiento

Se procedió a preparar 50 mL de la solución madre DPPH en etanol 96 grados a una concentración de 40 $\mu\text{g/mL}$, se mantuvo en el refrigerador y protegido de la luz, se realizó diluciones de 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5 y 1 $\mu\text{g/mL}$. La curva de calibración se construyó a partir de los valores de absorbancia obtenidos a 515 nanómetros de todas las soluciones (1 a 40 $\mu\text{g/mL}$), medidas en una cubeta de vidrio con el camino óptico de 1 cm y teniendo como “blanco” el etanol.⁸

El extracto atomizado de hojas *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, y el control positivo (trolox) en alcohol etanol 96 grados, son diluidos a concentraciones de 250, 200, 150, 100, 50 y 25 $\mu\text{g/mL}$. Las medidas de absorbancia de las mezclas de reacción (0,3 mL de solución de muestra y 2,7 mL de la solución madre de DPPH a la concentración de 40 $\mu\text{g/mL}$) se realizaron a 515 nanómetros a 30 minutos. Se utilizó una mezcla de etanol (2,7 mL) y 0,3 del extracto como blanco⁸.

b. Cálculos

- Se calculó el porcentaje de actividad antioxidante (%AA), según la siguiente ecuación:

$$\%AA = \frac{\{[Abs_c - (Abs_m - Abs_b)] \times 100\}}{Abs_c} \quad \dots \text{Ecuación (1)}$$

Donde:

Abs_c : Absorbancia inicial de la solución etanólica de DPPH

Abs_m : Absorbancia de la reacción del DPPH con la muestra.

Abs_b : Absorbancia del blanco

- Se calculó la concentración media inhibitoria (CI_{50}) de la actividad antioxidante, según la ecuación exponencial del porcentaje de DPPH remanente en función de la concentración de Trolox y/o extractos secos, utilizando el software OriginPro.

3.4. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de la evaluación de los estudios fueron procesados por Microsoft Excel y en el Software OriginPro.

Los resultados se expresan como promedio, la diferencia significativa existente entre los tratamientos fue evaluada a través del análisis de varianza (ANOVA one-way), seguidos de la prueba de T-student de la concentración media inhibitoria, con un nivel de significación estadística de 0,05.

Los promedios de la actividad antioxidante y la concentración media inhibitoria (CI_{50}) son reportados en gráficos. Para identificar diferencias estadísticamente significativas de las concentraciones evaluados se realizó el análisis de varianza, comparaciones múltiples de Duncan y T de Student de muestras independientes con un nivel de confianza de 95%.

4. RESULTADOS

Tabla 2. Identificación de metabolitos presentes en el extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.

Metabolitos	Ensayos	Resultados	Observaciones
Flavonoides	Shinoda	+++	Coloración rojiza
Fenoles y/o Taninos	Cloruro férrico	+++	Coloración verde intenso
Saponinas	Espuma	+++	Espuma
Triterpenos y/o esteroides	Liebermann - Burchard	+	Coloración marrón oscuro
Quinonas	Borntrager	+++	Coloración roja en la fase acuosa (superior)
Catequinas	Catequinas	++	Coloración verde
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	+++	Precipitado naranja
Azúcares reductores	Fehling	+++	Precipitado rojo

LEYENDA: Escasa/ligera (+); Regular (++); Abundante/intenso (+++)

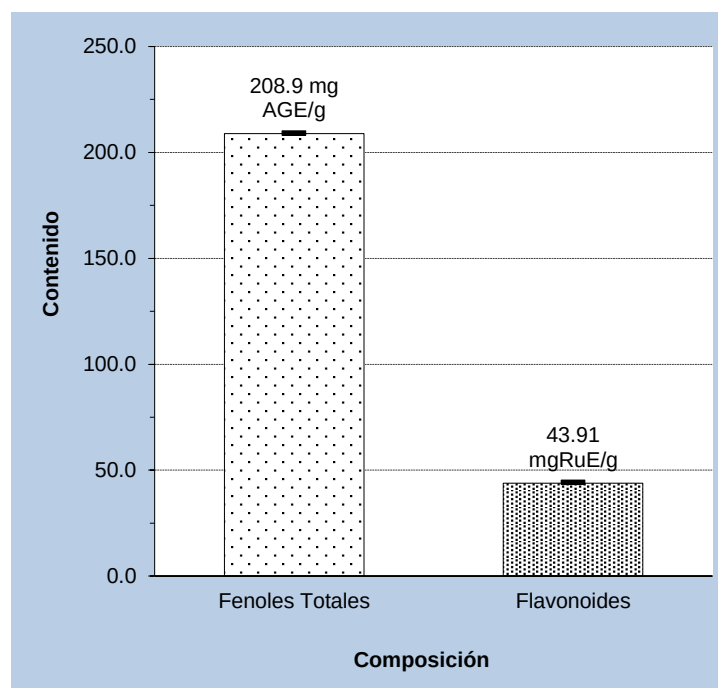
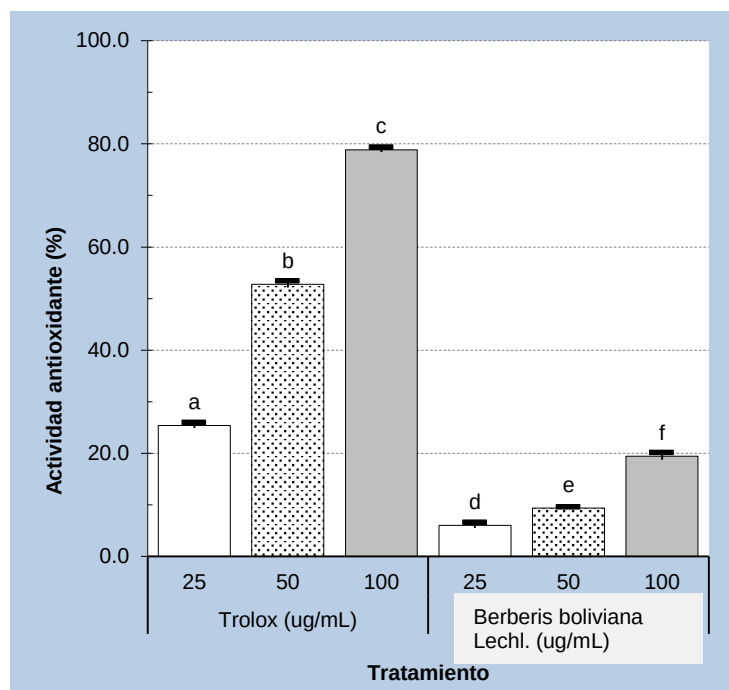


Figura 6. Contenido de fenoles totales y flavonoides totales en el extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviiana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.



Anova, $p = 7,8 \times 10^{-26}$

Figura 7. Actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.

Tabla 3. Concentración media inhibitoria (CI₅₀) del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.

Muestra	DPPH
	CI ₅₀ (µg/mL)
de <i>Berberis boliviana</i> Lechl.	262,26 ± 0,21 ^b
Trolox	38,4 ± 0,77 ^a
p = 8,3 x 10 ⁻⁷	

5. DISCUSIÓN

La tabla 2, muestra los resultados del tamizaje fitoquímico del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, donde se pudo evidenciar la presencia de catequinas, taninos, flavonoides, saponinas, quinonas, esteroides, cumarinas y azúcares reductores. Resaltando los ensayos de cloruro férrico y shinoda, mediante los cuales se observaron la presencia de taninos y flavonoides respectivamente, observándose una coloración verde oscuro intenso para taninos condensados y una coloración rojiza para flavonoides, la importancia de estos compuestos es debido a que diversas investigaciones mencionan que la actividad antioxidante se debe a estos metabolitos.

Los resultados descritos párrafos anteriores, se relacionan con los estudios realizado de la misma familia por Acuña et al.⁶, a la especie *berberis boliviana lechler* (Cheqche), Se evidenció la presencia de compuestos fenólicos, alcaloides, taninos, cumarinas, quinonas, lactonas, glicósidos, aminoácidos, saponinas, flavonoides y resinas.

Pérez et al.⁴¹, mencionan que una coloración verde indica la presencia de taninos hidrolizables y una coloración verde, de taninos condensados.

Miranda et al.³⁶, Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos, pero si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general; verde intenso, taninos del tipo pirocatecólicos; azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

En el caso *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, se pudo observar una coloración verde intenso para taninos condensados del tipo pirocatecólicos.

Toapanta⁴⁴, señala que los compuestos fenólicos también conocidos como polifenólicos (fenoles, taninos y flavonoides), forman un conjunto muy amplio de sustancias. Estos compuestos protegen a las plantas contra los daños oxidativos

y llevan a cabo la misma función en el organismo humano. Los flavonoides, también conocidos como bioflavonoides, son un grupo de sustancias polifenólicas las cuales están presentes en la mayoría de las plantas. Son principalmente reconocidos como los pigmentos responsables del color de las hojas en las plantas. La mayoría de los tejidos vegetales pueden sintetizar flavonoides, los cuales se presentan en forma de glucósidos solubles en agua y se localizan en las hojas y frutas empleadas en la alimentación humana.

Figura 6, se observan los resultados de la cuantificación de fenoles y flavonoides totales, se usaron los métodos espectrofotométricos de Folin- Ciocalteu y cloruro de aluminio (AlCl_3) respectivamente. Para la cuantificación de fenoles totales se elaboró la curva de calibración con el estándar ácido gálico, con un coeficiente de correlación de 0,9998 (anexo 7), realizando los cálculos correspondientes se obtuvo 208,9mg EAG/g de extracto atomizado. La curva de calibración para la cuantificación de flavonoides fue realizada con la estándar rutina, con un coeficiente de correlación de 0,9986 (anexo 9) obteniendo 43,9 mg ERu/g de extracto atomizado. Se puede observar que el contenido de flavonoides es menor en comparación con el contenido de fenoles totales, esto se debe a que los fenoles engloban los flavonoides.

Todos los fenoles poseen una estructura común: un anillo fenol, un anillo aromático que lleva al menos un sustituyente hidroxilo. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol⁴².

Los flavonoides son polifenoles que poseen al menos dos subunidades fenólicas, los compuestos que tienen tres o más subunidades fenólicas se denominan taninos⁴².

La actividad antioxidante de los distintos grupos de compuestos depende de la estructura individual y del número de oxidrilos sustituyentes, así como del peso molecular. En los flavonoides, esta característica se asocia con la presencia en la molécula de grupos orto dihidroxi en el anillo B, un doble enlace entre C_2 y C_3 en conjunto con la posición 4-oxo en el anillo C, y grupos 3-5 hidroxilo, y la función 4-oxo en los anillos A y C⁴².

Existe correlación entre el contenido de fenoles totales y la actividad de captura de radicales libres. La polaridad de los compuestos fenólicos es determinante en cuanto a la capacidad de capturar radicales libres. Los compuestos fenólicos que poseen mayor cantidad de sustituyentes hidroxilados (polihidroxilados) tienen una polaridad mayor que los otros fenoles. Los compuestos fenólicos capturan las

especies reactivas del oxígeno, tales como radical anión superóxido y radicales lípidos peroxi⁴².

En esta investigación se determinó la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, a través del método colorimétrico *in-vitro* con la especie radicalaria sintética DPPH, puesto que este es el más utilizados en los laboratorios del mundo debido a que indican de manera general, la capacidad antioxidante de las sustancias para donar hidrógenos o captar electrones.

Figura 7, se muestran los resultados de la actividad antioxidante según el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, y del estándar Trolox a tres diferentes concentraciones.

Para determinar la actividad antioxidante mediante el método DPPH, se trabajó con la curva de calibración del radical (anexo 11), se elaboró de acuerdo a la metodología descrita por Sousa y col.⁸, a las concentraciones de 1 µg/mL, 5µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, 30 µg/mL y 35 µg/mL, preparado de acuerdo al anexo 10. La muestra problema y el estándar fueron preparadas a las concentraciones de 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 200 µg/mL y 250 µg/mL (anexo 10). El extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, a las concentraciones de 25µg/mL, 50µg/mL y 100µg/mL mostraron una capacidad antioxidante de 6,04%; 9,38% y 19,40% respectivamente.

La actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, con respecto al estándar Trolox es estadísticamente significativa ($p = 7,8 \times 10^{-26}$), (anexo 12).

Los taninos o polifenoles poliméricos tienen mayor actividad antioxidante que los fenoles monoméricos simples⁴².

La solución de alcohol DPPH es de color morado oscuro, el cual desaparece en presencia de antioxidantes, lo que produce un descenso de la absorbancia a 515nanómetros. El DPPH es hidrófoba por lo que sus reacciones deben ejecutarse en solventes orgánicos, por ejemplo, metanol⁴³.

Figura 8, se muestran los resultados de la concentración media inhibitoria (CI₅₀), según el método DPPH para *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Donde a menor concentración inhibitoria (CI₅₀) mayor capacidad antioxidante, los resultados obtenidos fueron 262,3 µg/mL y 38,4 µg/mL, para el extracto atomizado

y Trolox respectivamente, estos resultados son estadísticamente diferentes ($p = 8,3 \times 10^{-7}$)

Los antioxidantes naturales han alcanzado una gran importancia por la relación directa que manifiestan con la disminución del riesgo a producir enfermedades coronarias y cáncer, entre otras. Numerosos antioxidantes, presentes en las frutas y verduras, entre los cuales se encuentran la vitamina E (α-tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico), β-caroteno (pro-vitamina A), compuestos fenólicos y flavonoides, se han relacionado a efectos positivos en la salud debido a su efecto antioxidante³³.

6. CONCLUSIONES

1. Se determinó el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”.
2. Los metabolitos identificados en el tamizaje fitoquímico del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, fueron: flavonoides, taninos condensados, esteroides, quinonas, cumarinas, saponinas y azúcares reductores.
3. El extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, contiene compuestos fenólicos totales en promedio de 208,9 mg EAG/g de extracto atomizado.
4. El extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, contiene flavonoides totales en promedio de 43,9 mg ERu/g de extracto atomizado.
5. El extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”, presenta actividad antioxidante *in vitro* frente al radical DPPH con una concentración inhibitoria de Cl_{50} de 262,3 μ g/mL, esta difiere estadísticamente del Trolox ($p=7,8 \times 10^{-26}$).

7. RECOMENDACIONES

- Realizar la extracción de compuestos con actividad antioxidante con otros solventes y otras técnicas.
- Realizar estudios clínicos y farmacológicos para evaluar la eficacia y seguridad del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rosales A, Betancort J. Evaluación de la actividad antioxidante de polifenoles de algas marinas. España. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 2006. [Revista en internet]. Disponible en: [https://old.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/ Practica-VI-3.pdf](https://old.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-VI-3.pdf)
2. Andari Vilma. La Importancia de los Antioxidantes en la Salud Cardiovascular. Alimentación, Nutrición y Salud. Los Angeles, California. 2009. [Revista en internet] Disponible en: [nutrahealthfood.com/wp-content/uploads/.../ LaImportanciaDeLosAntioxi dantes.pdf](http://nutrahealthfood.com/wp-content/uploads/.../LaImportanciaDeLosAntioxi dantes.pdf)
3. Venereo Gutiérrez Justo R. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidante. Instituto Superior de Medicina Militar “Dr. Luis Díaz Soto”. Rev Cubana Med Milit 2002; 31(2):126-33. [Revista en internet] Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mil/v31n2/mil09202.pdf>
4. Echevarria A. et al Evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extractos de dieciséis plantas medicinales. Revista Ciencia UNEMI Vol. 9, N° 20, pp. 29 – 35. septiembre 2016. Ecuador. [Revista en internet] Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5774771.pdf>
5. Bonilla Paredes, Pamela Cristina Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de carrasquilla (*Berberis hallii*) sobre *Escherichia coli* ATCC N° 9637, *Candida albicans* ATCC N°10231, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC N° 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC N°6538. Tesis para obtener el título profesional de Químico farmacéutico. Escuela superior politécnica de Chimborazo. [Revista en internet] Riobamba – Ecuador 2011. Disponible en: dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1581/1/56T00262.pdf
6. Acuña Solis D. y Cusi Luza B. estudio fitoquímico cualitativo, actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* lechler (cheqche), en un modelo experimental inducido químicamente por pentilentetrazol en animales de experimentación. Tesis para optar por el título profesional de químico farmacéutico. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, facultad de ciencias químicas, físicas y matemáticas carrera profesional de farmacia y bioquímica. Cusco-Perú. 2013.
7. Quispe, L. Actividad antioxidante, fenoles totales y antocianinas en el fruto y néctar de *airampu* (*Berberis weberbaueri* C. Scheneider). Tesis para obtener el título profesional de Ingeniera en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho; 2007.
8. Sousa C de M, Silva HR, Vieira-Jr GM, Ayres MCC, Costa C da, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Quím Nova. 2007; 30(2):351–355. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v30n2/20.pdf>
9. Silva, C. Cuantificación de los alcaloides de *Berberis hallii* “Carrasquilla” Sector la Josefina San Isidro del Cantón Guano Provincia de Chimborazo. Tesis para obtener el título de Bioquímico Farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba-Ecuador. [Revista en internet] 2010, [acceso noviembre 2017] disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/695/1/56T00225.pdf>
10. Raquel A. y Sánchez, A. Aportes botánicos de Salta - ser. flora herbaria MCNS. Facultad de Ciencias Naturales Universidad Nacional de Salta. Argentina. 2005 [Revista en internet] disponible en: www.unsa.edu.ar/biblio/herbario/flora/vol7/pdf/9.%20BERBERI DACEAE.pdf
11. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Oficina Regional para América Latina y el Caribe (FAORLC). Proyecto Regional

- de la FAO GCP/RLA/163/NZE. Gastronomía tradicional altoandina. Allin mikuy/sumak mikuy. FAORLC: 2010. Santiago Chile 2010. [Revista en internet] 2013 disponible en: www.fao.org/fileadmin/templates/aiq2013/res/es/recetarioandino.pdf
12. Cargua Q. Determinación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de carrasquilla (*berberis hallii*) mediante el test de edema inducido en ratas (*rattus novergicus*) y contenido de flavonoides. Tesis de grado previa a la obtención del título de químico farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba- Ecuador [Revista en internet] 2012 disponible: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2583/1/56T00355.pdf>
 13. Sanchez P. Comprobación de la actividad tintórea en fibras orgánicas y sintéticas de *Berberis hallii*. Tesis de grado previa a la obtención del título de químico farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba- Ecuador [Revista en internet] 2010 disponible: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/698/1/56T00228.pdf>
 14. Silva, C. Cuantificación de los alcaloides de *Berberis hallii* "Carrasquilla" Sector la Josefina San Isidro del Cantón Guano Provincia de Chimborazo. Tesis para obtener el título de Bioquímico Farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba-Ecuador. [Revista en internet] 2010, [acceso octubre 2017] disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/695/1/56T00225.pdf>
 15. Meza, K. Química y actividad biológica de *Berberis rotundifolia*. Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico. Universidad Austral de Chile. Valdivia-Chile. [Revista en internet] 2018, [acceso noviembre 2017] disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2008/fcm617q/doc/fcm617q.pdf>
 16. Villar del Fresno, A.. Farmacognosia Genral: Editorail Sintesis, S.A. España. 1999.
 17. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen vegetal. Omega S.A. Barcelona. 2000.
 18. Nayra, E. Estudio fitoquímico preliminar y actividad antioxidante de las hojas de *achyrocline alata* dc. (*huira-huira*) y su relación con su contenido de compuestos fenólicos totales. Tesis para optar el título profesional de: Químico Farmacéutico. Universidad Católica de Santa María. Arequipa – Perú. 2014. [Revista en internet] , [acceso abril 2018] disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/54221097.pdf>
 19. Martínez-Flórez, J. Gonzáles-Gallego, J.M. Culebras y M. J. Tuñón. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Revista nutrición hospitalaria. 2002. [Revista en internet]. Disponible en: www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf
 20. Pérez Trueba, G. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. Revista Cubana Invest Biomed 2003. [Revista en internet]. Disponible en: www.bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol22_1_03/ibi07103.pdf
 21. Martínez Dotor J. Efecto del procesamiento en el contenido de Compuestos Fenólicos y las propiedades antioxidantes de diferentes variedades de Frijol (*Phaseolus Vulgaris* L) mexicano [Internet] [tesis]. [Toluca, México]: universidad autónoma del estado de México; 2013 [citado 5 de enero de 2018]. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/14379/407988.pdf?sequen=1>
 22. Villanueva Bautista E. Contenido de betalainas y determinación de la actividad antioxidante de accesiones de *Chenopodium quinoa* Willd" quinua" del distrito de Tambillo-Ayacucho 2014 [Internet] [tesis]. [Ayacucho, Perú]: universidad nacional de san Cristóbal de huamanga; 2015 [citado 6 de enero de 2018].

- Disponible en: http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/977/Tesis%20B733_Vil.pdf?sequence=
23. Zhañay A. "relación entre la actividad antioxidante, y concentración de compuestos fenólicos contenidos en el fruto del pungal (*solanum crinitipes*)". Riobamaba-Ecuador, 2012. [Fecha de acceso 28 de noviembre de 2017]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2582/1/56T00350.pdf>.
 24. Núñez Arévalo L. Estudio fitoquímico del extracto alcaloidal de la especie nativa *berberis tabiensis* (LAC) *berberidaceae*. [Internet] [tesis]. [Bogotá, Colombia]: universidad nacional de Colombia; 2010 [citado 26 de noviembre de 2018].
 25. Villar M. Farmacognosia General. Editorial Síntesis. España. 1999.
 26. Iglesias J. Diseño de ingredientes antioxidantes de origen natural y su aplicación en la estabilización de productos derivados de pesca. [tesis de doctorado]. España. USC; 2009.
 27. García Ramírez AE. Evaluación in vitro/in vivo de propiedades antioxidantes de clones promisorios de papa criolla (*Solanum phureja*) [Internet] [tesis]. [Bogotá - Colombia]: Universidad Nacional de Colombia; 2011 [citado 5 de enero de 2018]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/8675/1/andraelisagarciaramirez.2011.pdf>
 28. Carvajal Aguilar MG. Evaluación de la actividad antioxidante de las hojas y frutos de la Feijoa (*Acca Sellowiana*) [Internet] [tesis]. [Riobamba, Ecuador]: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015 [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4007/1/56T00530%20UDCTFC.pdf>
 29. Gómez Ruiz LR. Evaluación de la actividad antioxidante en los extractos obtenidos por CO₂ supercrítico [Internet] [tesis]. [Bogotá, Colombia]: Universidad Distrital de Francisco José de Caldas; 2017 [citado 2 de marzo de 2018]. Disponible en: <C:\Users\FARMACIA\AppData\Local\Temp\GOMEZ RUIZ-3.pdf>
 30. Coavoy Sánchez IA. evaluación de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos de la tuna morada (*Opuntia ficus-indica*) del distrito de san bartolomé, huarochirí, lima. [Internet] [tesis]. [Lima - Perú]: universidad peruana union; 2015 [citado 5 de enero de 2018]. Disponible en: http://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/232/lbeth_Tesis_bachiller_2015.pdf?sequence=1
 31. Vintimilla Gualan, MG. Determinación de la actividad antioxidante de las fracciones lipofílicas e hidrofílicas de los subproductos agroindustriales de mango [Internet] [tesis]. [Loja, Ecuador]: universidad técnica particular de Loja 2013 [citado el 10 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/5752/1/tesis%20terminadaa.pdf>
 32. Muedas Taipe G. Estudio químico y de actividad antioxidante de la *Bauhinia guinensis* var. *kuntiana* Aubl. [Internet] [tesis]. [Lima, Peru]: PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ; 2013 [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/4794/MUEDAS_TAIPE_GOLFER_ACTIVIDAD_ANTIOXIDANTE_BAUHINIA_GUINENSIS.pdf?sequence=1
 33. Cerón Martínez LJ, López Ledesma IA. extracción y cuantificación de compuestos con actividad antioxidante a partir de cascara de tres variedades de papa (*solanum tuberosum*) en el departamento de Nariño [Internet] [tesis]. [San Juan de Pasto, Colombia]: Universidad de Nariño; 2013 [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: <http://biblioteca.udenar.edu.co:8085/atenea/>

- biblioteca/89552.pdf
34. Almeyda, W. "Fenoles totales y actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay". Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho; 2017.
 35. Organización Mundial de la Salud. Buenas Prácticas Agrícolas y de Recolección de Plantas Medicinales. Directrices de un grupo científico de la OMS. Ginebra, 2003.
 36. Miranda M, Cuéllar A. Manual de Prácticas de laboratorio. Farmacognosia y Productos naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad de la Habana: Editorial Félix Varela; 2000.
 37. Carpio Apaza RE, Figueroa Huayllapuma T. Efecto de la adición de goma arábica y maltodextrina en el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante en extracto de sancayo (*Corryocactus brevistylus*) liofilizado [Internet] [tesis]. [Arequipa - Perú]: universidad nacional de san Agustín de Arequipa; 2017 [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/3014/lacaapr.pdf?sequence=1>
 38. Gómez Salguero D. Determinación de la capacidad antioxidante del aceite de híbrido de palma en diferentes estados de maduración^ [Internet] [tesis]. [Bogotá, Colombia]: pontificia universidad javeriana; 2014 [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/16066/GomezSalgueroDaniela2014.pdf?sequence=1>
 39. Palomino García IR. caracterización fisicoquímica y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos de Antioquia [Internet] [Tesis de maestría]. [Medellín, Colombia]: Universidad Nacional de Colombia; 2009 [citado 20 de marzo de 2018]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Lady_Palomino/publication/30757644_Caracterizacion_fisicoquimica_y_evaluacion_de_la_actividad_antioxidante_de_propoleos_de_Antioquia/links/58adf85545851503be91e803/Caracterizacion-fisicoquimica-y-evaluacion-de-la-actividadantioxidante-de-propoleos-de-Antioquia.pdf
 40. Gonzales Gonzales L. Composición fenólica y actividad antioxidante de las hojas de *Mosiera crenulata* [Internet] [tesis]. [Cuba]: Universidad Central «Marta Abreu» de las Villas; 2016 [citado 8 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/6372/Lorena%20Gonz%C3%A1lez%20Gonz%C3%A1lez.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 41. Pérez F, Aponte GL, Avalos FR, Nuñez LV. Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. *Pueblo cont.* 2011; 22(2): 421-426. Disponible en: <file:///C:/Users/FARMACIA/AppData/Local/Temp/435-1596-1-PB-1.pdf>
 42. Paladino SC. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinífera* L.) [Internet] [Tesis]. [La Rioja, Colombia]: Universidad Nacional de Cuyo; 2012 [citado 8 de noviembre de 2018].
 43. Zaquinaula Iñahuazo FE. Determinación de la capacidad antioxidante en alimentos tradicionales [Internet] [Tesis]. [Loja, Ecuador]: Universidad Técnica Particular de Loja; 2016 [citado 8 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/16302/1/Zaquinaula%20I%C3%B1ahuazo%20Fabi%C3%A1n%20Efra%C3%ADn.pdf>
 44. Taopanta Caguana S. Cambios en la capacidad antioxidante durante el almacenamiento refrigerado de uvilla (*Physalis peruviana* L.) orgánica sin capuchón tratada con radiación UV-C. [Internet] [tesis]. [Quito, Ecuador]: Universidad Tecnológica Equinoccial; 2012 [citado 18 de octubre de 2018].

Disponible en: <http://repositorio.ute.edu.ec/handle/123456789/5014>

45. Valdez Palomino, Rosario del Pilar, contenido de fenoles totales y flavonoides totales en *Oenothera rosae* Ait “yawar suqu”, *Bacharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl “matico”. Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho; 2014.
46. León Gómez, Lisbeth, actividad antioxidante de los ácidos fenólicos aislados de las hojas de *Satureja breviculix* Epling “wayra muña”. Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho; 2012.
47. Berrocal Graciano, Sandra Karina, contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de *Solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga”, Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho; 2018.

9. ANEXOS

Anexo 1. Certificado de identificación taxonómica de *Berberis boliviana* Lechl.
“tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.

C O N S T A N C I A

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

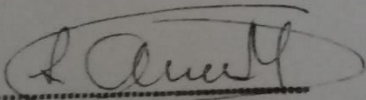
Que, el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fito medicamentos “Marco A. Garrido Malo, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de Investigación.

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

DIVISIÓN	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	MAGNOLIIDAE
ORDEN	RANUNCULALES
FAMILIA	BERBERIDACEAE
GENERO	<u>Berberis</u>
ESPECIE	<i>Berberis boliviana</i> Lechl.
N.V	“ tankar”, “airampu”

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

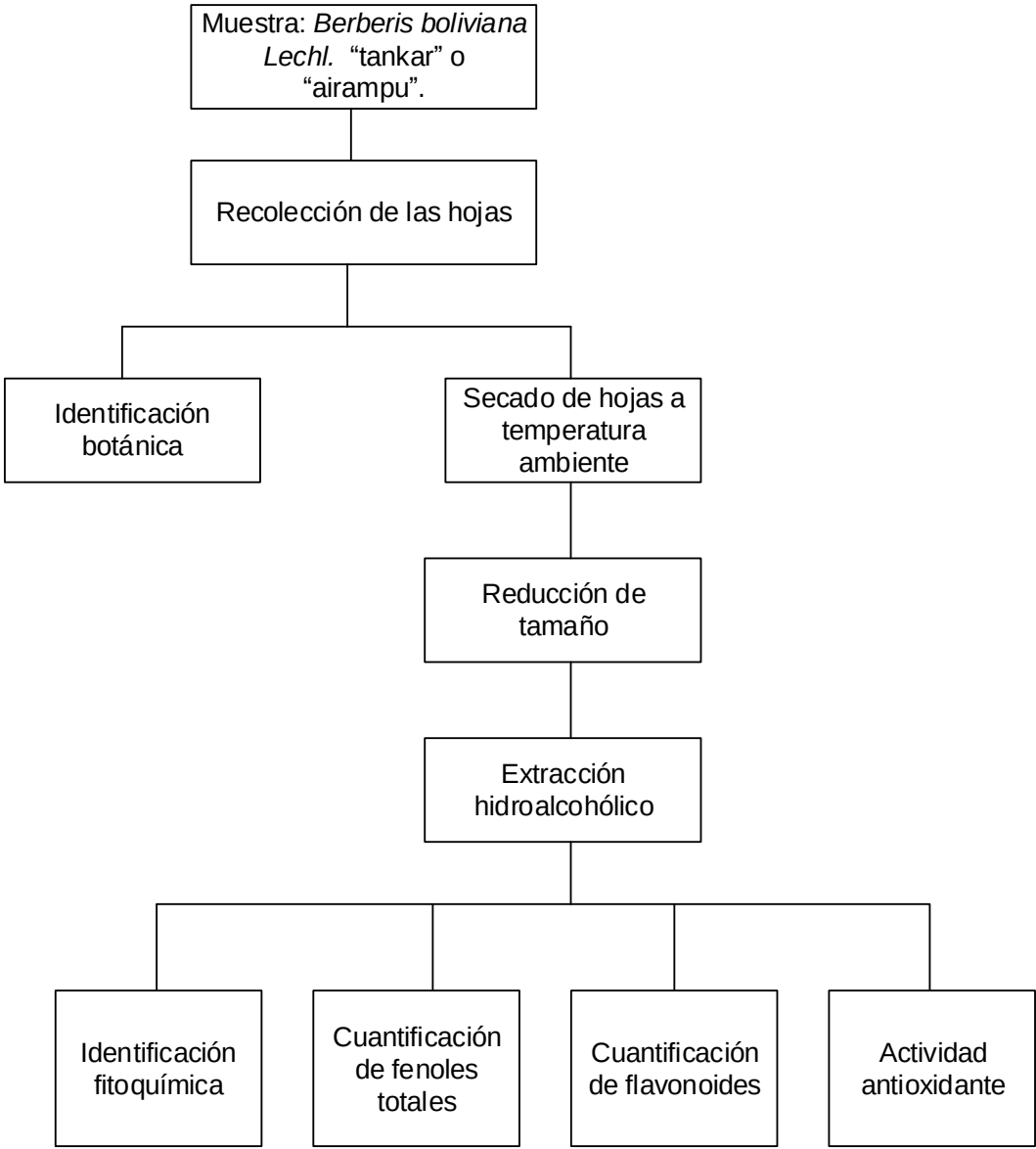
Ayacucho, 21 de Diciembre del 2 018


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

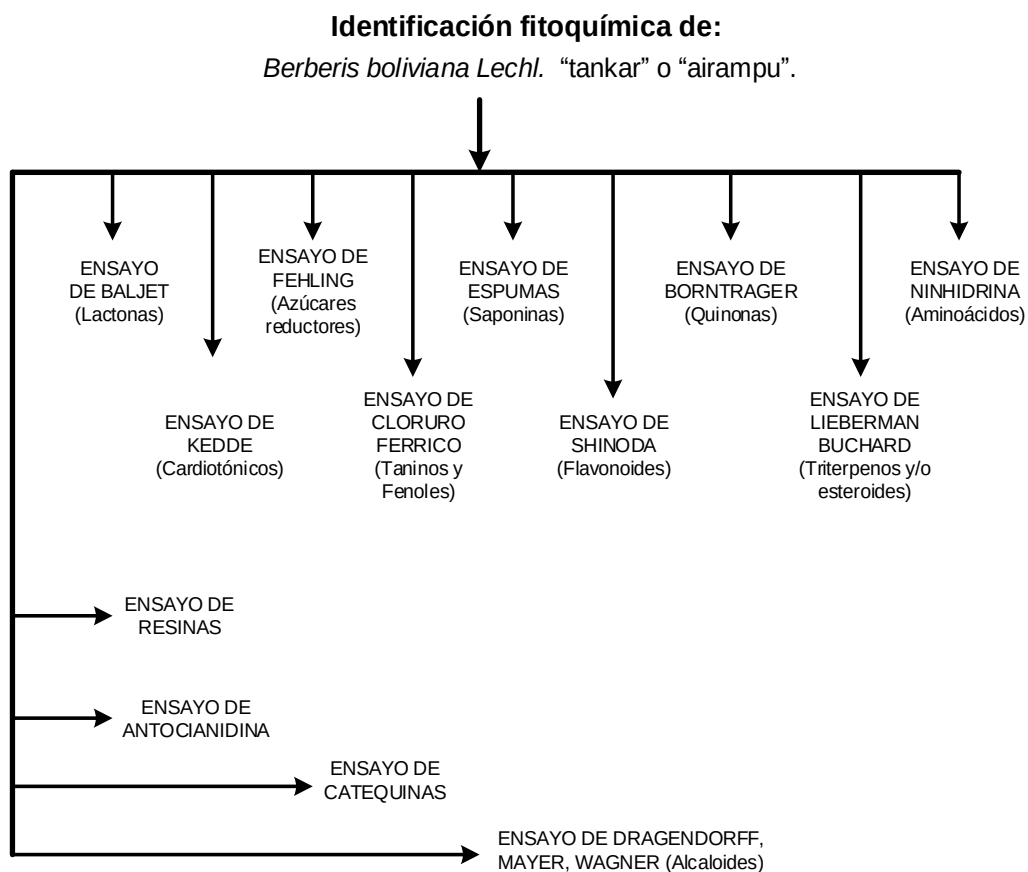
Anexo 2. Fotografía de las hojas y frutos de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.



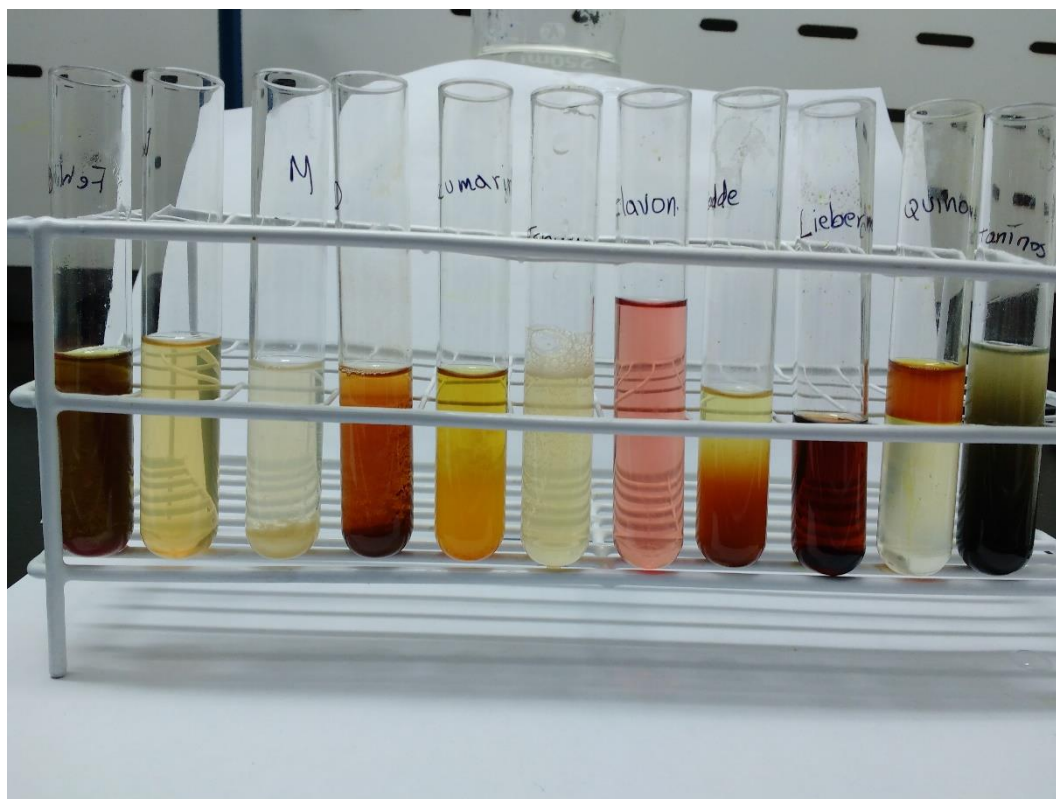
Anexo 3. Flujograma de procedimientos a seguir para la determinación de la actividad antioxidante de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.



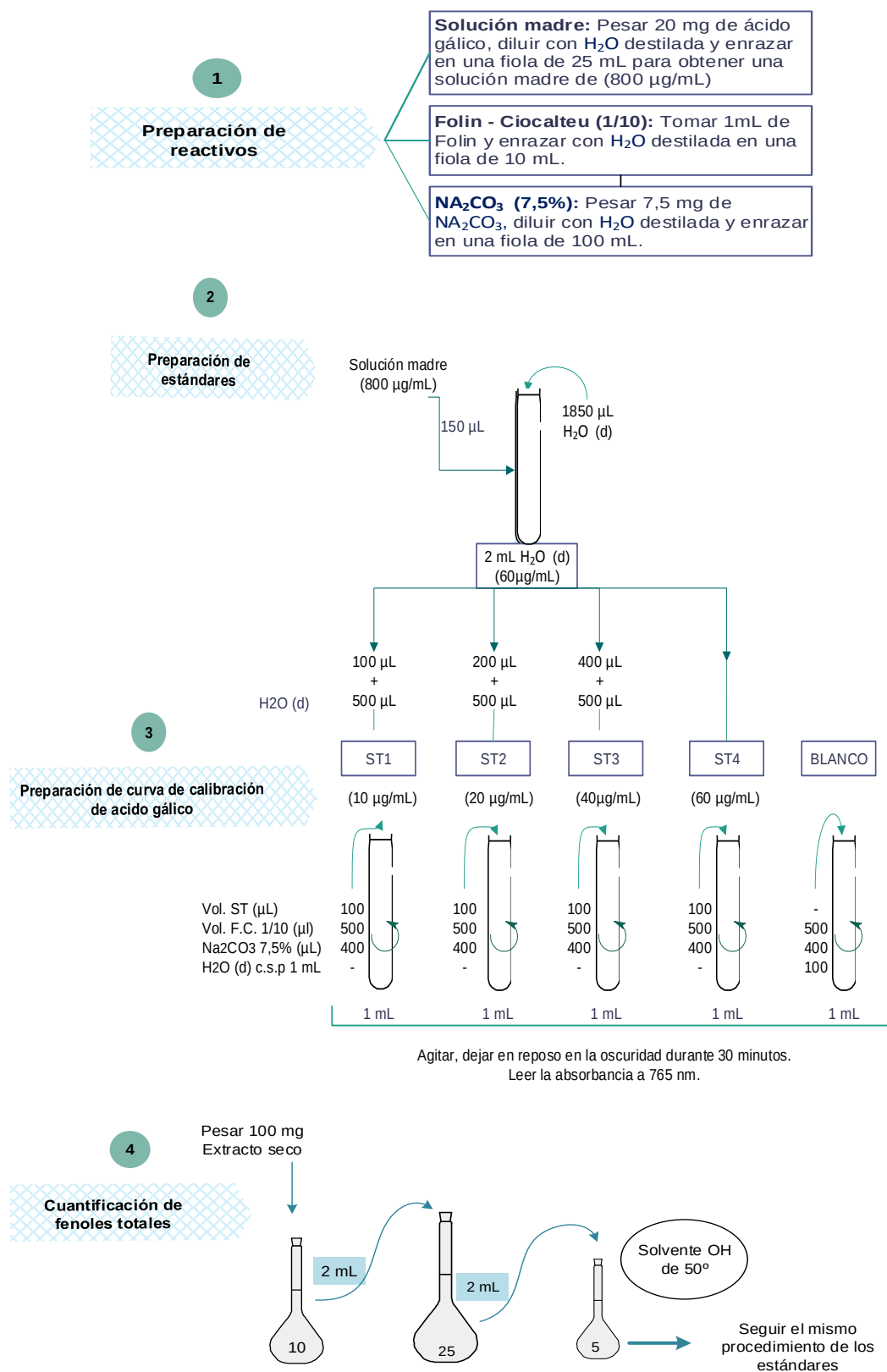
Anexo 4. Identificación fitoquímica del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018



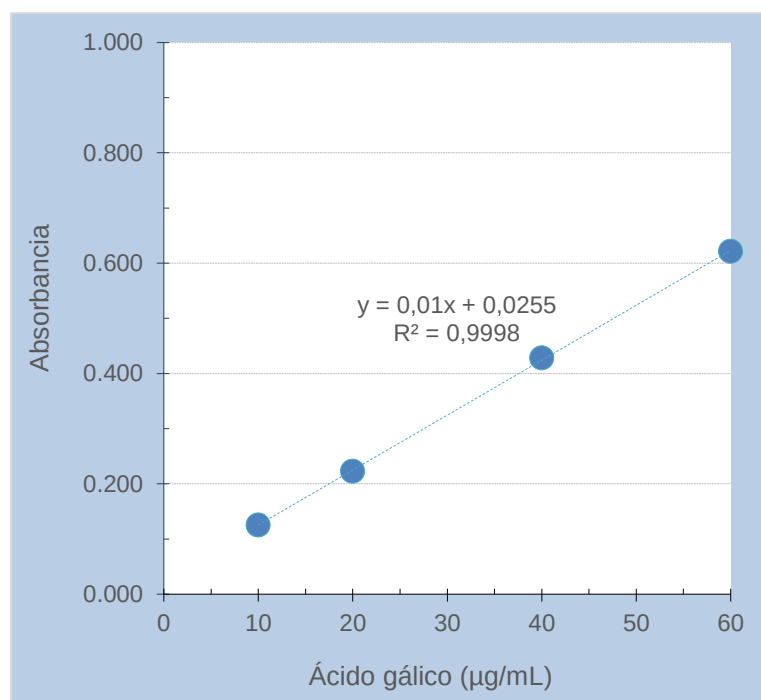
Anexo 5. Resultados de la identificación fitoquímica del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.



Anexo 6. Metodología para cuantificación de fenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.



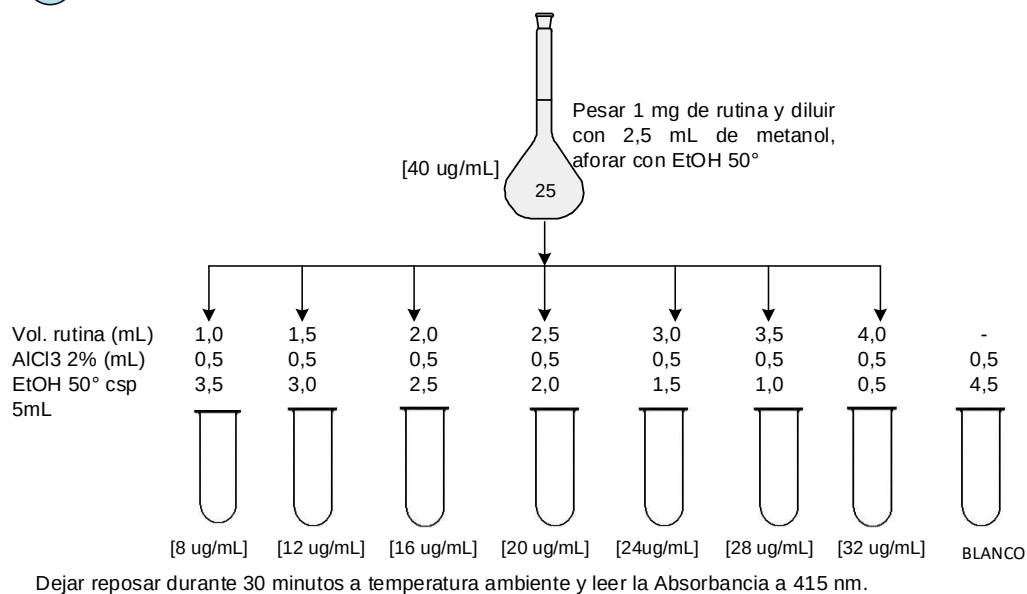
Anexo 7. Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.



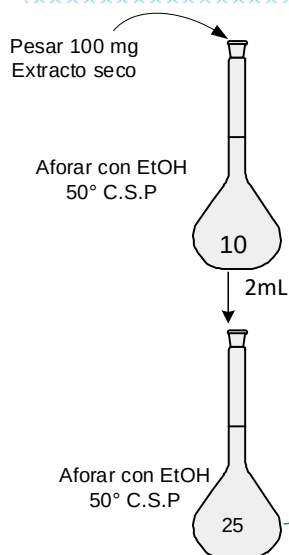
Anexo 8. Protocolo para la determinación del contenido de flavonoides totales en el extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.

CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

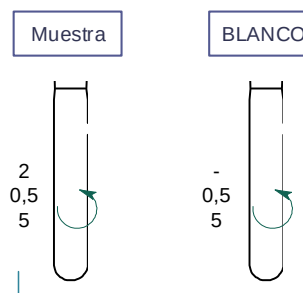
1 Preparación de la curva de calibración de rutina



Preparación de la muestra

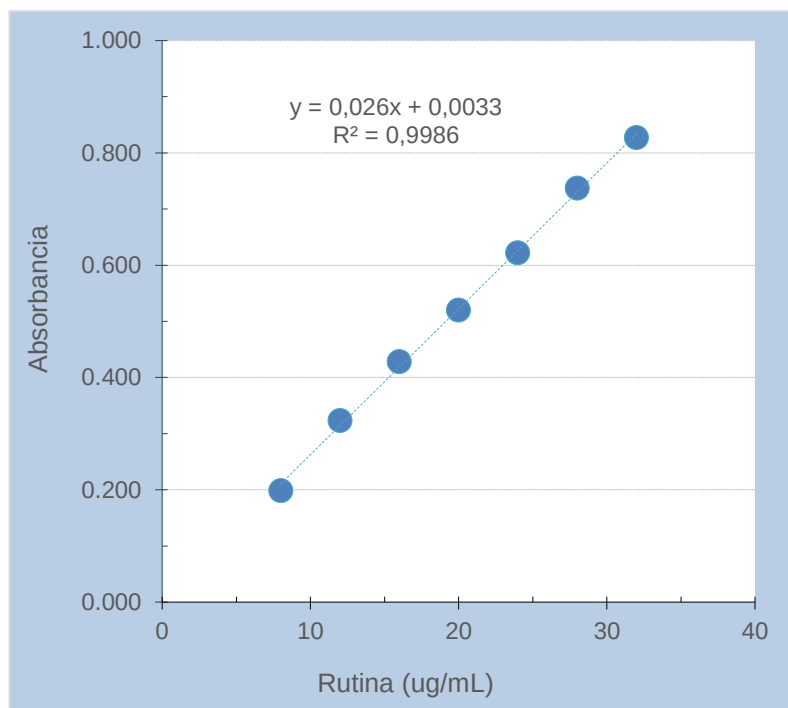


3 Lectura de muestras



Agitar, dejar en reposo en la oscuridad durante 30 minutos.
Leer la absorbancia a 415 nm.

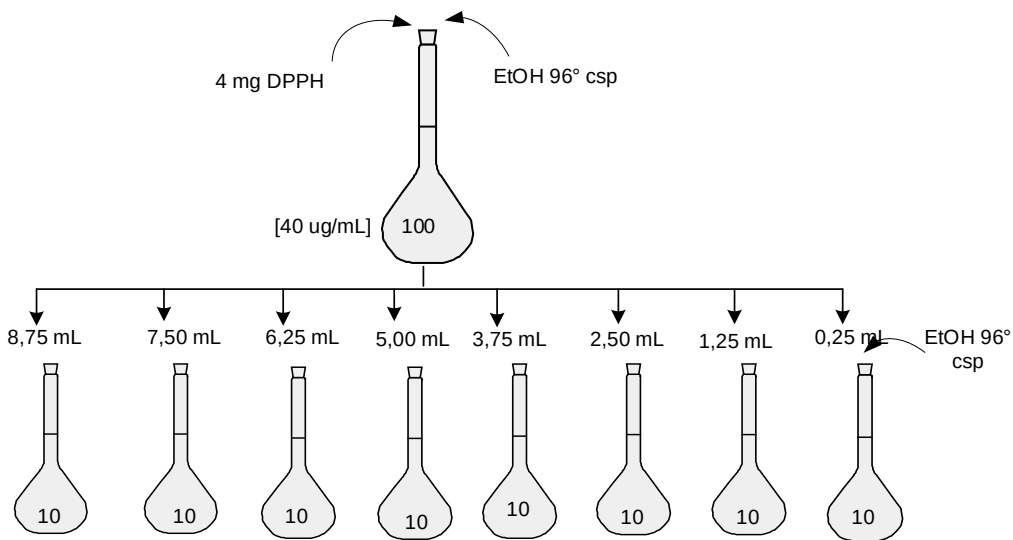
Anexo 9. Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides totales del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.



“tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.

MÉTODO DPPH

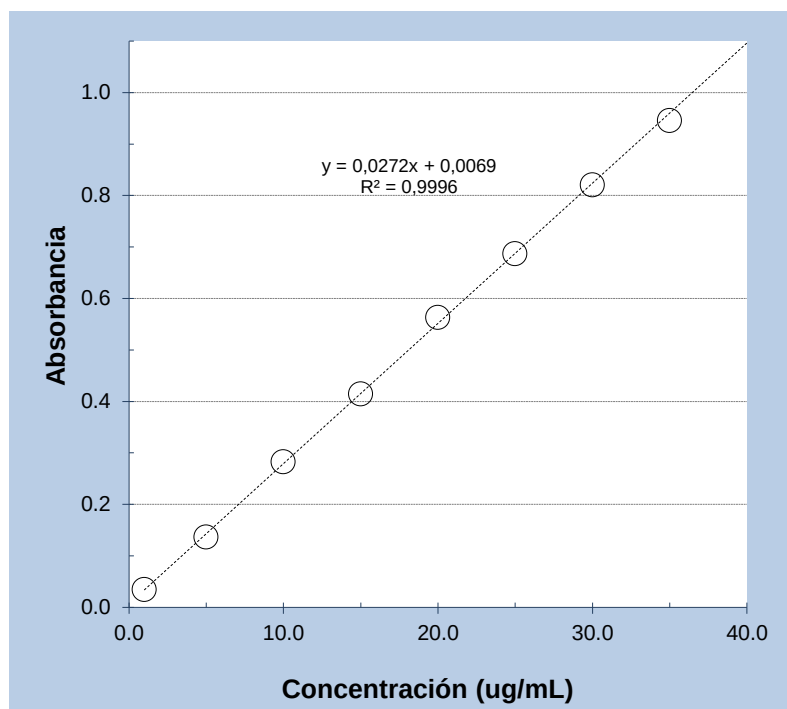
- 1 Preparación de la solución de trabajo de DPPH → Pesar 4mg de DPPH, aforar a 100 mL con EtOH 96°.
- 2 Preparación de la curva de calibración de DPPH



Leer la Absorbancia a 515 nm, calibrar el espectrofotómetro con EtOH 96°.

- ### 3 Determinación de la actividad antioxidante
-
- ```
graph TD; M[Muestra] --> M1[preparar una solución del extracto hidroalcohólico de “tankar” o “airampo” equivalente a 500ug/mL]; M1 --> M2[Tomar alícuotas de 0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; y 2,5 mL.]; M2 --> M3[Aforar a 5mL con etanol 96°]; E[Estándar] --> E1[Pesar 5mg de Trolox, aforar con etanol 96° hasta 10 mL]; E1 --> E2[Tomar alícuotas de 0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; y 2,5 mL.]; E2 --> E3[Aforar a 5mL con etanol 96°]; M3 --> J[]; E3 --> J; J --> J1[Tomar 300 uL de muestra o estándar]; J1 --> J2[Adicionar 2700uL de la sol. de trabajo DPPH]; J2 --> J3[Agitar e incubar en la oscuridad a T° ambiente durante 30 minutos.]; J3 --> J4[Leer en el espectrofotómetro a 515 nm];
```
- Muestra**
- preparar una solución del extracto hidroalcohólico de “tankar” o “airampo” equivalente a 500ug/mL
- Tomar alícuotas de 0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; y 2,5 mL.
- Aforar a 5mL con etanol 96°
- Estándar**
- Pesar 5mg de Trolox, aforar con etanol 96° hasta 10 mL
- Tomar alícuotas de 0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; y 2,5 mL.
- Aforar a 5mL con etanol 96°
- Tomar 300 uL de muestra o estándar
- Adicionar 2700uL de la sol. de trabajo DPPH
- Agitar e incubar en la oscuridad a T° ambiente durante 30 minutos.
- Leer en el espectrofotómetro a 515 nm

**Anexo 11.** Curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante, según el método DPPH del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.



**Anexo 12.** Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.

|                     | Suma de<br>cuadrados | gl   | Media<br>cuadrática | F       | Sig.                  |
|---------------------|----------------------|------|---------------------|---------|-----------------------|
| Entre<br>grupos     | 17113,0              | 5,0  | 3422,6              | 57351,2 | $7,8 \times 10^{-26}$ |
| Dentro de<br>grupos | 0,7                  | 12,0 | 0,1                 |         |                       |
| Total               | 17113,7              | 17   |                     |         |                       |

Si: Sig. > 0,05; estadísticamente similares

Si: Sig. < 0,05; estadísticamente diferentes



**Anexo 13.** Prueba t student de igualdad de varianzas del Cl<sub>50</sub>, mediante la captación del radical DPPH del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.

|                                | Prueba de Levene de igualdad de varianzas |        | prueba t para la igualdad de medias |       |                  |                      |                              |                                                |          |  |
|--------------------------------|-------------------------------------------|--------|-------------------------------------|-------|------------------|----------------------|------------------------------|------------------------------------------------|----------|--|
|                                | F                                         | Sig.   | t                                   | gl    | Sig. (bilateral) | Diferencia de medias | Diferencia de error estándar | 95% de intervalo de confianza de la diferencia |          |  |
|                                |                                           |        |                                     |       |                  |                      |                              | Inferior                                       | Superior |  |
|                                |                                           |        |                                     |       |                  |                      |                              |                                                |          |  |
| Se asumen varianzas iguales    | 12,68                                     | 0,0236 | -51,88                              | 4     | 8,26393E-07      | -223,8466667         | 4,31                         | -235,83                                        | -211,87  |  |
| No se asumen varianzas iguales |                                           |        | -51,88                              | 2,002 | 0,0004           | -223,8466667         | 4,31                         | -242,39                                        | -205,30  |  |

Sig. bilateral = p

Si: Sig. > 0,05; estadísticamente similares

Si: Sig. < 0,05; estadísticamente diferentes

**Anexo 14.** Comparación múltiple de Duncan de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH del extracto atomizado de las hojas de *Berberis boliviana* Lechl. “tankar” o “airampu”. Ayacucho 2018.

| Tratamiento      | N | Subconjuntos homogéneos %AA |       |       |       |       |       |
|------------------|---|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                  |   | 1                           | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     |
| mp 25 ug/mL      | 3 | 6,0                         |       |       |       |       |       |
| mp 50 ug/mL      | 3 |                             | 9,4   |       |       |       |       |
| mp 100 ug/mL     | 3 |                             |       | 19,4  |       |       |       |
| Trolox 25 ug/mL  | 3 |                             |       |       | 25,4  |       |       |
| Trolox 50 ug/mL  | 3 |                             |       |       |       | 52,8  |       |
| Trolox 100 ug/mL | 3 |                             |       |       |       |       | 94,7  |
| Sig.             | 0 | 1,000                       | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Se muestran las medias para los grupos en los subgrupos homogéneos

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,00

**Anexo 15**  
Matriz de consistencia

| TITULO                                                                                                                         | PROBLEMA                                                                                                                                                               | OBJETIVOS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | MARCO TEORICO                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | HIPÓTESIS                                                                                                                              | VARIABLES                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | METODOLOGÍA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Fenoles totales y actividad antioxidante de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. "tankar" o "airampu". Ayacucho 2018. | ¿Cuánto será la concentración de flavonoides y compuestos fenólicos, tendrá actividad antioxidante las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. "tankar" o "airampu"? | <p><b>Objetivo general</b><br/>Determinar el Contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. "tankar" o "airampu".</p> <p><b>Objetivos específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Determinar la composición fitoquímica de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. "tankar" o "airampu".</li> <li>• Cuantificar el contenido de fenoles totales de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. "tankar" o "airampu".</li> <li>• Cuantificar el contenido de flavonoides totales de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. "tankar" o "airampu".</li> <li>• Determinar la capacidad antioxidante de las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. "tankar" o "airampu" por el método DPPH.</li> </ul> | <p><b>DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA ESPECIE <i>Berberis boliviana</i> Lechl.</b></p> <p>Son arbustos perennes, que crecen entre 1 y 5 metros de altura. Una de las características botánicas importantes es la presencia de espinas en las hojas o tallos de los arbustos. Las flores y frutos se pueden presentar en agrupaciones de racimos o umbelas. Las flores usualmente son de color amarillo, naranja o rojo anaranjado. Los frutos son de color púrpura oscuro, azulados o negros.</p> <p><b>RADICALES LIBRES</b></p> <p>Los radicales libres (RL) son especies químicas que poseen en el último orbital un electrón no apareado, por lo que, son capaces de extraer un electrón de las moléculas vecinas para completar su orbital, convirtiéndose en componentes altamente reactivos y oxidantes.</p> <p><b>ANTIOXIDANTES</b></p> <p>Los antioxidantes terminan las reacciones de oxidación quitando intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos.</p> | Las hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. "tankar" o "airampu" contiene flavonoides, compuestos fenólicos y actividad antioxidante | <p><b>Variable 1</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fenoles totales</li> </ul> <p><b>Indicador</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Equivalentes de ácido gálico (mg/g)</li> </ul> <p><b>Variable 2</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavonoides totales</li> </ul> <p><b>Indicador</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Equivalentes de rutina (mg/g)</li> </ul> <p><b>Variable 3</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Actividad antioxidante</li> </ul> <p><b>Indicadores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Porcentaje de inhibición (%), TEAC</li> </ul> | <p><b>POBLACIÓN:</b><br/>Hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. "tankar" o "airampu", que crecen en zonas altas, del centro poblado de Huaschahura, provincia Huamanga, departamento de Ayacucho.</p> <p><b>MUESTRA:</b> Un Kg de hojas desecadas de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. "tankar" o "airampu".</p> <p><b>DISEÑO METODOLÓGICO:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se recolectará y se secará la muestra de <i>Berberis boliviana</i> Lechl. "tankar" o "airampu".</li> <li>• La obtención del extracto hidroalcohólico de la muestra.</li> <li>• La concentración de la muestra y secado por atomización.</li> <li>• Se procederá a evaluar los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado.</li> <li>• Determinar los fenoles totales usando el método de Folin-Ciocalteu.</li> <li>• Determinar los flavonoides totales usando el método de cloruro de aluminio.</li> <li>• La actividad antioxidante se determinará por el método de DPPH por espectrofotometría.</li> </ul> <p><b>ANÁLISIS DE DATOS</b><br/>Se realizará un análisis de varianza (ANOVA) utilizando un nivel de significancia del 95%.</p> |