



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENÓLES DE HOJAS Y FRUTO DE *Azadirachta*
***indica* “NEEM”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR:

CIPIRAN VASQUEZ, MARISOL CRISTINA

ORCID: 0000-0002-0402-3635

ASESOR:

ZEVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA

ORCID: 0000-0003-2547-9831

CHIMBOTE – PERÚ

2019

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES DEL EXTRACTO DE HOJAS Y FRUTO
DE *Azadirachta indica* “NEEM”**

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Cipiran Vasquez, Marisol Cristina

ORCID: **0000-0002-0402-3635**

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Chimbote, Perú

ASESOR

Mgter. ZEVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA

ORCID: 0000-0003-2547-9831

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de
La Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote,
Perú

JURADO

Doc. DIAZ ORTEGA, JORGE LUIS

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Mgter. RAMIREZ ROMERO, TEODORO WALTER

ORCID: 0000-0002-2809-709X

Mgter. VASQUEZ CORALES, EDISON

ORCID: 0000-0001-9059-6394

JURADO EVALUADOR DE TESIS

**Dr. JORGE LUIS DIAZ
ORTEGA**

PRESIDENTE

**Mgtr. TEODORO WALTER
RAMÍREZ ROMERO**

MIEMBRO

**Mgtr. EDISON VASQUEZ
CORALES**

MIEMBRO

**Mgtr. LIZ ELVA
ZEVALLOS ESCOBAR**

ASESOR

AGRADECIMIENTO

Gracias a Dios, por haberme dado la vida, fuerzas y sabiduría para poder culminar los estudios superiores, por ayudarme a corregir mis equivocaciones y así poder mejorar como ser humano. Gracias Dios Mío por iluminar y guiar siempre mi camino, dándome fuerzas para seguir adelante en los momentos difíciles.

A ti mamá Vicenta Vásquez y tía Juana Vásquez, e hija Briana por ser el motor, motivo y mi fuerza para poder cumplir mis metas, por enseñarme a que no debemos rendirnos así haya momentos muy difíciles, gracias por estar allí apoyándome siempre desde el inicio hasta el final de mi carrera. Por ser siempre un ejemplo de vida, de mujeres luchadoras a pesar de algunos obstáculos.

También a ti Dustin por siempre apoyarme y cogerme fuerte de la mano, dando fortaleza para poder llegar al final de la meta trazada. Gracias también a mis hermanos que me apoyaron y estuvieron viendo mis caídas y diciéndome vamos tu puedes, todo pasará y que mi propósito, esfuerzo y dedicación en algún momento será recompensado.

Gracias Dra. Liz Zevallos Escobar y Dr. Edison Vásquez Corales, por brindarme su confianza, sus conocimientos y por siempre estar apoyándome desde el inicio de mi trabajo, por su dedicación, por su amistad y por todo lo que aprendí de ustedes.

DEDICATORIA

Mi proyecto de tesis se lo dedico con mucho amor a mi mamá, porque gracias a su sacrificio y su esfuerzo pude llegar a la meta, por ser la persona más importante en mi vida, por ser la persona que me dio fuerzas y ánimos en todo momento, por estar conmigo en toda mi educación, por brindarme toda la confianza y creer en mí, apoyarme en cada decisión que tomo, aconsejándome, brindándome su comprensión día a día. Gracias también a mi pequeña hija que es el otro motor y motivo por el cual sigo adelante, luchando por lo que más me gusta mi profesión, a mi única tía que estando lejos siempre estuvo apoyándome en todo momento. Finalmente, a mis amigos incondicionales, por darme ánimos siempre, por motivarme , apoyarme y ayudarme en mi formación profesional.

RESUMEN

La planta de Neem ha sido empleada desde la antigüedad para el tratamiento de múltiples afecciones, sin embargo, es en la actualidad con el desarrollo tecnológico que se han realizado investigaciones científicas sobre sus propiedades terapéuticas, una de ellas es su capacidad antioxidante. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles de hojas y fruto secos de *Azadirachta indica* Neem. Se llevó a cabo mediante el método de Folin-Ciocalteu como estándar catequina a una absorbancia de 700 nm y el método de DPPH como estándar Trolox a una absorbancia de 515 nm. Los resultados mostraron que el contenido de polifenoles totales en el extracto metanólico, en infusión en las hojas obtuvo un resultado de 25.63 ± 0.24 (mg de catequina / eq. g de muestra seca), en el fruto obtuvo un resultado de 58.99 ± 1.14 (mg de catequina / eq. g de muestra seca), estos resultados se considera como cantidad significativa de polifenoles totales. La hoja de Neem en DPPH en el extracto metanólico en infusión obtuvo (354.83 ± 26.29 mM Trolox eq / g de muestra seca), y la muestra del fruto obtuvo un resultado de (230.89 ± 9.03 mM Trolox eq / g de muestra seca). Se puede concluir que el fruto y hojas de *Azadirachta indica*, contiene polifenoles y capacidad antioxidante.

Palabras claves: *antioxidante, Azadirachta indica, capacidad, polifenoles.*

ABSTRACT

The Neem plant has been used since ancient times for the treatment of multiple conditions, however, it is currently with the technological development that has conducted scientific research on its therapeutic properties, one of them is its antioxidant capacity. The present study aimed to evaluate the antioxidant capacity and polyphenol content of leaves and nuts of *Azadirachta indica* Neem. It was carried out by the Folin-Ciocalteu method as a catechin standard at an absorbance of 700 nm and the DPPH method as a Trolox standard at an absorbance of 515 nm. The results obtained that the content of total polyphenols in the methanol extract, infused in the leaves obtained a result of 25.63 ± 0.24 (mg of catechin / eq. G of dry sample), in the product obtained a result of 58.99 ± 1.14 (mg of catechin / eq. g of dry sample), these results are considered as significant amount of total polyphenols. The Neem sheet in DPPH in the infused methanolic extract obtained (354.83 ± 26.29 mM Trolox eq / g dry sample), and the product sample obtained a result of (230.89 ± 9.03 mM Trolox eq / g dry sample) It can be concluded that the *Azadirachta indica* product and leaves contain polyphenols and antioxidant capacity.

Keywords: *antioxidant, Azadirachta indica, capacity, polyphenols.*

ÍNDICE

EQUIPO DE TRABAJO	iii
JURADO EVALUADOR DE TESIS.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. Bases teóricas de la Investigación.....	6
III. HIPÓTESIS.....	15
IV. METODOLOGÍA.....	16
4.1 Diseño de la investigación.....	16
4.2 Población y muestra.....	17
4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	19
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	20
4.5 Plan de análisis	20
4.6 Matriz de consistencia.....	21
4.7 Principios éticos.....	22
V. RESULTADOS.....	23
5.1 Resultados.....	25
V. CONCLUSIONES.....	29
Referencias Bibliográficas.....	30
Anexos.....	40

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Contenido de polifenoles totales por gramo de hojas y fruto de <i>Azadirachta indica</i> “Neem”.....	23
--	----

TABLA 2: Capacidad antioxidante de hojas y fruto de <i>Azadirachta indica</i> “Neem”.....	24
--	----

I. INTRODUCCIÓN:

Las plantas medicinales contienen fitoquímicos con propiedades curativas, aunque no todas han sido comprobadas científicamente. Las plantas medicinales hoy en día se suelen utilizar con más confianza ya que en algunas de sus partes contienen principios activos que se pueden utilizar con fines terapéuticos, para la curación o tratar ciertas patologías. Desde hace mucho tiempo el hombre ha experimentado con diferentes plantas, con el único propósito de encontrar una solución a sus problemas de salud. ^[1]

Desde la antigüedad se lleva a cabo la práctica de emplear plantas con fines medicinales, esto ha permitido que los investigadores de la industria farmacéutica consideren como fuente de nuevos productos a las plantas medicinales, estos productos incluyen medicamentos, suplementos alimenticios, antioxidantes naturales y productos antibacterianos. ^[2]

Hoy en día el uso de plantas medicinales a nivel mundial para las personas es la alternativa terapéutica que requieren de la medicina tradicional para su atención sanitaria, es fundamental saber que plantas pueden utilizarse para cada determinada enfermedad, puesto que un mal uso de estas puede resultar inefectivo para el organismo o también pueden causar muchas reacciones adversas o alguna toxicidad para la salud. El amplio uso de la medicina tradicional se atribuye a su accesibilidad y asequibilidad, siendo muchas veces la única fuente para la atención sanitaria de los pacientes de menores recursos. ^[3]

Son diversos los estudios que han mostrado las diferentes reacciones bioquímicas del cuerpo humano lo que generan especies reactivas de oxígeno, las cuales son capaces de dañar biomoléculas esenciales, como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Si estas especies no son captadas eficientemente por constituyentes celulares, pueden ocasionar enfermedades. Sin embargo, la acción tóxica de los radicales libres puede ser bloqueada por sustancias antioxidantes, las cuales captan los radicales libres en el organismo y pueden jugar un rol muy importante en la modulación de detoxificación enzimática, estimulación del sistema inmune, disminución de la agregación plaquetaria y modulación del metabolismo hormonal. ^[4]

Azadirachta indica A. Juss “Neem” es un árbol de grande tamaño que pertenece a la familia Meliaceae y es conocida comúnmente como margosa y paraíso de la india en español y como Neem en inglés e hindú, es tradicionalmente empleado en la India, es conocido como la "farmacia de la aldea" o la "botica del pueblo" debido a sus muchos fines medicinales para curar y prevenir distintas enfermedades. ^[5]

La planta de Neem ha sido empleada desde la antigüedad para el tratamiento de múltiples afecciones, sin embargo, es en la actualidad con el desarrollo tecnológico que se han realizado investigaciones científicas sobre sus propiedades terapéuticas, una de ellas es su capacidad antioxidante. Entre las plantas con potencial actividad biológica se encuentra el Neem del que se ha reportado que sus hojas tienen actividad antioxidante, esta actividad se atribuye a la presencia de polifenoles en la planta, los cuales son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal y su capacidad antioxidante se debe a la reactividad del grupo fenol. ^[6]

Es gracias a su potencial antioxidante que en este trabajo se plantearon los siguientes objetivos.

Objetivos:

Objetivo general:

1. Determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles del extracto de hojas y fruto de *Azadirachta indica* “Neem”.

Objetivos específicos:

1. Determinar el contenido de polifenoles totales por gramo de hojas y fruto de *Azadirachta indica* “Neem”.
2. Evaluar la capacidad antioxidante de hojas y fruto de *Azadirachta indica* “Neem”.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA:

2.1. ANTECEDENTES:

Fong et al⁴ en su estudio realizado en el año 2014 en Cuba, se planteó como objetivo evaluar el potencial antioxidante de los extractos acuosos de hojas de Neem, para ello emplearon un equipo Soxhlet y fue caracterizado mediante un análisis fitoquímico preliminar y espectroscopia UV/VIS. El contenido de fenoles totales fue determinado por el ensayo de Folin-Ciocalteu y la determinación de la actividad antioxidante fue desarrollada por el método del reactivo de fosfomolibdeno, lo cual permitió obtener como resultado que el contenido de fenoles del extracto de la planta expresados en equivalentes de ácido tánico fue de 54,87 mg/g y mostró una actividad antioxidante a través del ensayo del fosfomolibdeno (215,01 mmol/g), comparable al ácido ascórbico, y por tanto se concluye que dichos resultados obtenidos de las hojas de Neem demuestran que son una fuente rica en compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes.

Reyes et al⁷ en su estudio realizado en el año 2017 en México, plantearon el objetivo de evaluar la actividad antioxidante de las infusiones y determinar el tiempo óptimo de la infusión para conservar la actividad antioxidante de los compuestos activos en infusiones de Neem fresco y seco usando material de pared para su encapsulación, se utilizó la siguiente metodología, para la preparación de infusiones de 0, 3, 5, 8, 10, 12 y 15 minutos se usaron hojas frescas y secas de Neem. A las infusiones se les determinaron pH, sólidos totales, intensidad de color, contenido de polifenoles por el método de Folin-Ciocalteu y actividad antioxidante mediante el método de (DPPH). A las infusiones con mayor

contenido de compuestos antioxidantes, se les añadieron 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0% material de pared (proteína de soya), el mayor resultado fue en las hojas secas de Neem , por lo tanto se concluyó que las infusiones de Neem a base de hojas secas son una buena fuente de compuestos fenólicos.

Carrillo et al⁸ realizaron una evaluación de las propiedades antioxidantes del Neem en México, el cual plantearon como objetivo evaluar las propiedades antioxidantes del Neem mediante la preparación de infusiones de hojas secas de esta planta a diferentes tiempos de infusión, se prepararon infusiones de hojas secas de Neem en proporción 1:50, a diferentes tiempos de infusión. A los extractos de hojas secas se les determinaron pH, actividad antioxidante, polifenoles totales por la técnica de Folin-Ciocalteu, intensidad de color a 390 nm y el contenido de sólidos totales, los resultados, en las infusiones preparadas a partir de hojas secas, se observó a 8 minutos de infusión se tuvo la mayor liberación de compuestos activos, con actividad antioxidante de 33.10 -O.D.-3 /min/mgm.s. y un contenido de polifenoles de 839.00 EAG mg/L, por lo tanto se concluye que las hojas secas del Neem tienen propiedades antioxidantes.

Flores et al⁹ en un estudio realizado en el año 2017 en Mexico sobre las semillas de wietenia humilis Zuccarini (Caoba), el cual plantio como objetivo evaluar el potencial antioxidante S. humilis obtenido por infusión, la cual analizaron mediante el Método de DPPH , se demostró que el extracto tiene alta capacidad de secuestro de radicales libres , lo cual se concluye que los resultados son novedosos para el estudio de la semilla como antioxidante natural.

2.2 BASES TEÓRICAS:

2.2.1 NEEN "*Azadirachta indica* A Juss."

2.2.1.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA.

El Neem se ubica en zonas tropicales como en el Suroeste Asiático, e Indonesia, es conocido como paraíso de la India, se desarrolla bien en ambientes tropicales.

La planta del Neem también se encuentra en países de América como Bolivia, Ecuador, Argentina, Brasil y Perú ; es una planta que no soporta las bajas temperaturas menor a 18 °C. En nuestro País la planta del Neem se ha cultivado desde hace muchos años, en zonas tropicales como la ciudad de Piura. ^[10]

2.2.1.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

La planta del Neem tiene como nombre científico *Azadirachta indica*, la cual pertenece a la familia de Miliaceae, es un árbol que crece rápido, robusto, tiene una sus hojas muy perennes, siempre de color verde y frondoso. Sus principales características botánicas son:

- ✓ **Árbol:** El tronco de Neem crece recto, con una altura de 30 metros y puede tener un grosor de hasta 2.5 metros, su corteza es de color gris rojizo, este árbol puede vivir alrededor de 200 años.
- ✓ **Hoja:** la hoja de la planta del Neem es de forma aserrada, peciolada, puede medir alrededor de 10 cm de largo, cuando las hojas son maduras, estas se tornan , de color verde oscuro, su agrupación es de foliolos (cada foliolo tiene 7 pares de hojas).
- ✓ **Fruto:** Son racimos de color verde con endocarpio blanco y duro, la pulpa es jugosa y dulce, el fruto tiene una maduración desuniforme, puesto que

puede ver en la misma rama frutos maduros como no maduros, la mayoría de los frutos maduran en los meses de julio y septiembre. ^[11]

2.2.1.3 CLASIFICACIÓN TAXONOMICA DE NEEM

“Azadirachta indica”

- ✓ REINO: Vegetal
- ✓ SUB REINO: Trachaeophyta
- ✓ DIVISIÓN: Embriofitas
- ✓ SUB-DIVISIÓN: Angiospermas
- ✓ CLASE: Dicotiledonea
- ✓ ORDEN: Geraniales
- ✓ FAMILIA: Meliaceae
- ✓ GENERO: Azadirachta
- ✓ ESPECIE: *Azadirachta indica*
- ✓ NOMBRE CIENTIFICO: *Azadirachta indica*
- ✓ NOMBRE COMUN: Neem ^[10]

2.2.1.4 PARTE DE LA PLANTA USADA EN MEDICINA TRADICIONAL

Principalmente el fruto y hojas.

2.1.1.1 PROPIEDADES MEDICINALES DEL NEEM

La plata de Neem es de suma importancia, porque tiene muchos beneficios, se utiliza para tratar enfermedades cardiovasculares, controla los niveles de azúcar en sangre(diabetes) la goma de la corteza para enfermedades respiratorias, las hojas para problemas digestivos, parásitos intestinales e infecciones virales; el fruto para la debilidad, malaria, enfermedades de la piel y parásitos intestinales. Por otro lado, en la agricultura lo utilizan como pesticidas y repelentes de insectos.

El Neem tiene un componente llamado nimbina, la cual tiene la propiedad de antiinflamatoria, antimicótica y antihistamínica, a la misma vez tiene otro componente como la quercetina la cual tiene la propiedad de tener poder antioxidante. ^[12]

2.1.2 ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son sustancias que cuando están presentes en el organismo, inhiben y retardan la oxidación de sustratos susceptibles al ataque de especies reactivas del oxígeno. Los antioxidantes engloban a un grupo de sustancias que presentan estructuras químicas muy diversas y mecanismos de acción muy variados. ^[13]

2.1.3 SISTEMA DE DEFENSA ANTIOXIDANTES

Está constituido por un grupo de sustancias que, al estar presente en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN. Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente -membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular. ^[14]

2.1.4 CLASIFICACIÓN DE ANTIOXIDANTES

Antioxidantes Endógenos:

- **Superóxido Dismutasa (SOD):** Esta enzima se encuentra presente en el citosol y en la mitocondria, es la encargada de catalizar la disminución del radical superóxido para formar peróxido de hidrogeno, su principal función es la de protección contra el anión superóxido.
- **La Glutación Peroxidasa:** Es una proteína que posee 4 átomos de selenio, la cual requiere como sustrato esencial al glutatión, para que este pueda conjugarse con compuestos potencialmente tóxicos, solubilizar y facilitar su excreción biliar. La glutatión es una enzima que se localiza en el citosol y lisosomas.
- **La Catalasa:** Es una proteína que presenta hierro en su núcleo, se encuentra localizada a nivel celular en mitocondrias, tiene una doble actividad catalizar la reacción de reducción del peróxido de hidrogeno.^[15]

Antioxidantes Exógenos:

- **Vitamina E:** Constituida por el alfa-tocoferol, la cual le brinda la mayor actividad biológica (antioxidante y estabilidad de las membranas), la vitamina E es la principal defensa contra el daño oxidativo de la membrana en los tejidos humanos, ya que posee la función de capturar radicales libres, capturar O₂, neutralizar el oxígeno singlete y neutralizar peróxidos.^[16]

- **Vitamina C:** Tiene un alto poder reductor, es un antioxidante hidrofílico, que participa en el metabolismo intermediario y oxidativo, también en la reabsorción de hierro, y es la vitamina esencial para la respuesta inmune. La vitamina C como antioxidante es capaz de neutralizar el oxígeno singlete, capturar radicales libres de hidroxilo y regenerar la forma oxidada de la vitamina E.^[14]
- **Fenoles:** Son metabolitos que depuran compuestos de radicales libres como el anión superóxido y el oxígeno singlete, pero también capturan iones de metales, oxígeno singlete, desapareado para destruir a los radicales libres.^[16]
- **Los Betacarotenos o Provitamina A:** Son precursores de la vitamina A que van actuar de forma independiente en muchas funciones celulares, una de ellas es que por su alto contenido antioxidante va actuar sobre los radicales libres evitando así patologías relacionadas con el envejecimiento celular, su función principal es neutralizar el oxígeno singlete.^[17]

2.2.5 ESTRÉS OXIDATIVO

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre los 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. El estrés oxidativo, por tanto, es la consecuencia de un aumento en la producción de radicales libres, de una reducción de los sistemas antioxidantes de nuestro organismo o de una combinación de ambos. ^[18]

2.2.6 ENVEJECIMIENTO Y ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo se define como el desequilibrio entre las moléculas de alto potencial oxidante derivadas del oxígeno (conocidas como especies reactivas del oxígeno) y los sistemas antioxidantes; a favor de la generación de las ERO. El dogma central de esta teoría radica en que durante el metabolismo aerobio se producen incidental e incontrolablemente especies radicales derivadas del oxígeno que, una vez generadas, promueven reacciones que dañan macromoléculas. Este daño irreversible se acumula con el tiempo resultando en una pérdida gradual de la capacidad funcional de la célula. ^[19,20]

2.2.7 RADICALES LIBRES

Un radical libre es aquella figura química que tiene en su estructura uno o más electrones no apareados. Es altamente reactiva y clave para formar otros radicales libres en cadena, además por la vida media que es de microsegundos, ocurre una rápida propagación con moléculas aledañas y mayor daño potencial. De hecho, un radical libre puede afectar 1 millón de moléculas durante la reacción en cadena. Los compuestos en cuestión forman parte de las llamados especies reactivas del oxígeno (ERO) o ROS (Reactive Oxygen Species) ^[21]

Los radicales libres se liberan durante el metabolismo humano, y también se producen por contaminantes ambientales, (atmosféricos, acuáticos, de suelos), radiaciones (ultravioleta, gamma, hertziana), entre otros. Se pueden relacionar con el consumo o uso de tóxicos como el alcohol, tabaco y drogas o debido a una alimentación no adecuada, exposición a fertilizantes o pesticidas. [22]

2.2.8 ENFERMEDADES, PROCESOS DEGENERATIVOS Y ESTRÉS OXIDATIVO.

Envejecimiento resulta de la acumulación de lesiones orgánicas debidas a los radicales libres , a una disminución de las concentraciones de antioxidantes e inactivación de las enzimas detoxificadoras de radicales libres y una acumulación de proteínas oxidadas no degradadas, por otro lado la enfermedad de diabetes mellitus tiene como posible mecanismo la vía del poliol por el que la hiperglucemia puede alterar la función y la estructura de las células afectadas por las complicaciones diabéticas. La activación de la vía del poliol disminuiría el NADPH y los niveles de glutatión, aumentando de esta manera el estrés oxidativo. [21, 28]

2.2.9 COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos, son potentes secuestradores de especies reactivas de oxígeno y la vez son capaces de inhibir a enzimas productoras de radicales libres. Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático, con uno o más grupos hidróxidos [23]. Como antioxidantes, los polifenoles pueden proteger las células contra el daño oxidativo y por lo tanto limitar el riesgo de varias enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo causado por los radicales libres. [24]

2.2.9 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

a) MECANISMO DE ACCIÓN

El mecanismo de acción de los antioxidantes se darán en tres niveles; prevención, estabilización de los radiales (secuestradores) y eliminación. Los antioxidantes de prevención, van a impedir la formación de radicales libres a través de la descomposición de lípidos peroxidados (LOO) y peróxido de hidrogeno (H₂O₂), y su finalidad corre a cargo de mecanismos de tipo enzimático, capaces de metabolizar las especies reactivas oxigénicas a estructuras más estables, o de tipo no enzimático como agentes quelantes capaces de secuestrar metales que participen en la formación de radicales libres. Los antioxidantes captadores de radicales libres los estabilizan, inhibiendo la cadena de inicio y rompiendo la de propagación. Dentro de este grupo se encuentran tanto antioxidantes de origen endógeno como exógenos obtenidos a partir de la dieta. Los mecanismos de eliminación y reparadores, actúan cuando las biomoléculas ya han sufrido el daño eliminándolas o reparándolas (glicosilasas de DNA, las fosfolipasas y las proteasas).^[25]

b) MÉTODO DEL DPPH

Hay diversas técnicas descritas que nos ayudan a evaluar la capacidad antioxidante de alimentos y plantas, una de las más utilizadas es la técnica que utiliza el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo conocido por las siglas DPPH. Este radical libre es susceptible de reaccionar con compuestos antioxidantes a través de un proceso caracterizado por la cesión de un átomo de hidrógeno proporcionado por el agente antioxidante. Los estudios cinéticos

que muestran que este proceso ocurre a través de una reacción de pseudo primer orden la que puede seguirse midiendo la disminución de la absorbancia en función del tiempo. [26]

La Reacción del DPPH y un antioxidante se representa de tal manera:



El DPPH es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, solo puede disolverse en medio orgánico que puede presentar un pico de absorbancia a 515 nm.

La evaluación de la capacidad de captura del radical libre DPPH se evalúa mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición radical DPPH} = \left[1 - \frac{A_m - A_{bm}}{A_r - A_{br}} \right] * 100$$

c) MÉTODO DEL FOLIN CIOCALTEU (RF-C)

El método original de Folin-Ciocalteu (F-C) se originó en el año 1927 a partir de los reactivos químicos utilizados para el análisis de tirosina, en donde la oxidación de los fenoles, mediante un reactivo de molibdotungstato, producía un producto coloreado con un máximo de absorbancia a 745-750 nm. Este método es colorimétrico que va permitir el análisis de compuestos orgánicos que presenten anillos aromáticos hidroxilados (fenoles, ácido tánico, taninos, etc.) de origen vegetal como precedentes de residuos. [27,28]

El método de Folin-Ciocalteu, la cual se basa en la propiedad de los fenoles de reaccionar frente a agentes oxidantes. Este reactivo contiene molibdato y tungstato sódico que al reaccionar con los compuestos fenólicos presentes, forman complejos fosfomolibdico - fosfotúngstico. En medio básico la transferencia de electrones reduce estos complejos a óxidos de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), cromógenos de color azul intenso que son proporcionales a la cantidad de grupos fenólicos presentes en la molécula de interés. ^[29,30]

III. HIPÓTESIS

Implícito

IV. METODOLOGÍA

4.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El presente informe de investigación, corresponde a un estudio de tipo descriptivo.

4.1.1 OBTENCIÓN DE LA DROGA VEGETAL

El estudio se realizó con la muestra de hoja y fruto de *Azadirachta indica* en óptimo estado de desarrollo vegetativo y fitosanitario. Dichas muestras fueron secadas en una estufa Binder a 45°C, por 4 horas, posteriormente se pulverizaron y se almacenaron a 4 °C en un frasco color ámbar hasta el momento de su respectivo análisis.

4.1.2 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO: EXTRACCIÓN EXHAUSTIVA.

Para realizar la extracción se utiliza la muestra seca y triturada, se pesa exactamente cerca de 0,2505 g de hoja y 0.3072 del fruto, la cual fue cubierto con 15 mL de metanol al 80% + ácido fórmico al 0.1%. El tubo de ensayo se envuelve con una capa de papel aluminio para luego ser colocado en el agitador magnético AREX con papel aluminio para evitar que los rayos de la luz puedan degradar a los polifenoles porque estos son muy sensibles, por 30 minutos, luego de transcurrir el tiempo se procedió a retirar solo la fase líquida, enseguida pesamos la muestra para llevarlo a la centrifuga Hettich por 5 minutos en una revolución de 6000 rpm de absorbancia por minuto. Luego de un determinado tiempo sacamos el sobrenadante a una fiola de 50 ml (envuelto con una capa de papel aluminio), este proceso se realiza por tres veces,

finalmente se lleva a volumen con el solvente y se guarda en congelador hasta el momento del análisis respectivo.

4.1.2.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA SECA DE INFUSIÓN

En un vaso de precipitación se agregó 200 mL de agua tipo 2, luego se llevó a calor hasta su ebullición a continuación se retira y se agregó 2gr de muestra (hoja y fruto) posteriormente se cubrió con papel aluminio y se deja en reposo durante 5 minutos, finalmente se filtra con papel Whatman N°1 y se deja enfriar para su posterior análisis.

4.1.2.2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA SECA EN DECOCCIÓN

En un vaso de precipitación se coloca 200 mL de agua tipo 2 más 2.07 gr de muestra (hoja y fruto) y se somete a ebullición durante 10 minutos se cubre con papel aluminio, finalmente se filtra con papel Whatman N°1 y se deja enfriar para su posterior análisis.

4.1.3. TÉCNICAS PARA DETERMINAR POLIFENOLES TOTALES

➤ Determinación de fenoles totales (TF)

Se colocó 2.5 ml de agua tipo 2, en una fiola de 10 ml, luego se añadió el estándar de catequina en las siguientes concentraciones 0,5 ; 1 ; 2,5; 5 y 10 ppm(mg/L) para así poder obtener la curva de calibración , a las demás fiolas se adicionó 100 µL de extracto metanolico al 80% ,25 µL de infusión y 50 µl de la decocción. Posteriormente se adicionó 500 µl de Folin Ciocalteu lo cual fue puesto en oscuridad por 5 minutos. Pasado los 5 minutos se agregó 2ml

de carbonato de sodio al 10 %, seguidamente se aforo con agua tipo 2, dicho proceso se volvió a poner en oscuridad por 90 minutos, por último se realizó la lectura en el espectrofotómetro UNICO 2800 UV/Vis a una longitud de onda de $\lambda = 700$ nanómetros. [31, 32]

4.1.4 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE SEGÚN EL MÉTODO DE DPPH.

- Método DPPH (1,1- difenil-2-picril-hidrazilo)

Se adicionó en una cubeta ISO LAB de laborgerate GmbH, 1450 μL de DPPH a 0.06 nm, lo cual se llevó a leer al espectrofotómetro UNICO 2800 UV/Vis a una longitud de onda de 515 nm, con una absorbancia a tiempo cero (DPPH t0), luego se le agrego 50 μL del extracto de hojas y fruto y se colocó a oscuridad alrededor de 15 minutos para esperar una reacción, finalmente se obtuvo la absorbancia a tiempo 15 (DPPH t15). Dicho análisis se realizó por triplicado para cada una de las muestras. El estándar que se utilizó fue Trolox a concentraciones de 0.05; 0.1; 0.2; 0.4; 0.8 mM, para poder obtener la curva de calibración. [33]

Para determinar el % de inhibición se utilizó la siguiente formula.

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{DPPH t0} - \text{DPPH t15}}{\text{DPPH t0}} \times 100$$

4.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

Población vegetal de la especie de la hoja y fruto de *Azadirachta indica*

Neem, muestra que se obtuvo en el mes de Abril, en el departamento de Piura.

Muestra: Se empleó alrededor de 10 gr de hoja y fruto de la especie de *Azadirachta indica* (Neem)

4.3 DEFINICIÓN Y OPERACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	Capacidad antioxidante: Sustancia que al encontrarse a bajos niveles de concentraciones en existencia de un sustrato oxidable, está puede retardar la oxidación de la misma.	Se determinó a través del porcentaje de inhibición de radicales libres , realizado por el método de DPPH.	Mm equivalente en trolox/ g muestra seca.
CONTENIDO DE POLIFENOLES	Contenido de polifenoles: Grupo heterogéneo de moléculas que comparten la característica de tener en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas	Extracto metanolico en fruto mediante “Decocción, Infusión” realizado por el método de Folin-Ciocalteu.	mg expresados en catequina

4.4 TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Para la realización del presente trabajo se utilizó la observación directa, la medición y registro de algunas reacciones de coloración, el equipo de espectrofotómetro UNICO 2800 UV/Vis, otras características que se observaron en la medición de las concentraciones totales de polifenoles de *Azadirachta indica* (Neem). La capacidad antioxidante se registró en fichas de recolección de datos.

4.5 PLAN DE ANÁLISIS

El análisis de dichos datos se presentó mediante tablas y registros. Los gráficos representan la curva de calibración del estándar y las tablas indican la capacidad antioxidante que equivale a Trolox ($\mu\text{M/g}$ de muestra peso fresco y para el contenido promedio de polifenoles expresados mg catequina/ g muestra y su desviación estándar.

4.6 MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS:	HIPÓTESIS	VARIABLES	TIPO DE INVESTIGACIÓN	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN
Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles del extracto de hojas y fruto de <i>Azadirachta indica</i> "Neem".	¿Cuál es la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles del extracto de hojas y fruto de <i>Azadirachta indica</i> "Neem"?	<p>Objetivo general:</p> <p>Determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles del extracto de hojas y fruto de <i>Azadirachta indica</i> "Neem".</p> <p>Objetivos específicos:</p> <p>Determinar el contenido de polifenoles totales por gramo de hojas y fruto de <i>Azadirachta indica</i> "Neem".</p> <p>Evaluar la capacidad antioxidante de hojas y fruto de <i>Azadirachta indica</i> "Neem".</p>	La hoja y fruto de <i>Azadirachta indica</i> "Neem" tiene un alto contenido de polifenoles, por tanto la hoja y fruto de <i>Azadirachta indica</i> "Neem" presenta capacidad antioxidante	Capacidad antioxidante del extracto de hojas y fruto de <i>Azadirachta indica</i> "Neem". Contenido de polifenoles del extracto de hojas y fruto de <i>Azadirachta indica</i> "Neem".	Estudio de tipo descriptivo	<ol style="list-style-type: none"> Determinación de polifenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu. Evaluación de la capacidad antioxidante según el método de DPPH.

4.7 PRINCIPIOS ÉTICOS

El trabajo descriptivo se realizó para contribuir a la promoción de la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso adecuado y beneficioso de *Azadirachta indica*, con el fin de registrar información relevante y demostrar científicamente la veracidad de sus propiedades y beneficios terapéuticos, los cuales son muy útiles en la Salud, para el bienestar de la humanidad. ^[34]

4. RESULTADOS

5.1.Resultados:

Tabla 1: Contenido de polifenoles totales por gramo de hojas y fruto de *Azadirachta indica* “Neem”

<i>MUESTRA</i>	<i>EXTRACTO</i>	<i>POLIFENOLES TOTALES (mg de catequina eq./g de muestra seca)</i>	\pm
<i>Azadirachta indica</i> (<i>Hoja</i>)	Hoja	20.36	1.40
	Infusión	25.63	0.24
	Decoccto	15.19	0.80
<i>Azadirachta indica</i> (<i>Fruto</i>)	Fruto	58.99	1.14
	Infusión	11.47	0.38
	Decoccto	11.01	1.16

Fuente: Elaborado en Microsoft Excel.

Tabla 2: Capacidad antioxidante de hojas y fruto de *Azadirachta indica* “Neem”

<i>MUESTRA</i>	<i>EXTRACTO</i>	<i>DPPH (mM Trolox Eq./ 1 g muestra seca)</i>	\pm
<i>Azadirachta indica</i> (<i>Hoja</i>)	Hoja	250.33	7.10
	Infusión	354.83	26.29
	Decoccto	179.04	1.10
<i>Azadirachta indica</i> (<i>Fruto</i>)	Fruto	230.89	9.03
	Infusión	188.84	23.56
	Decoccto	169.50	5.25

Fuente: Elaborado en Microsoft Excel.

5.2 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

En este trabajo de investigación se realizó la determinación de polifenoles totales de la hoja y fruto de Neem, la cual se llevó a cabo mediante un estudio descriptivo que nos permitió saber si existe la presencia de compuestos fenólicos, para este trabajo se utilizó el método de Folin-Ciocalteu. Este método, se basa en la propiedad de los fenoles de reaccionar frente a agentes oxidantes.^[35] Este reactivo contiene molibdato y tungstato sódico que, al reaccionar con los compuestos fenólicos presentes, forman complejos fosfomolibdico - fosfotúngstico. En medio básico la transferencia de electrones reduce estos complejos a óxidos de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), cromógenos de color azul intenso que son proporcionales a la cantidad de grupos fenólicos presentes en la molécula de interés.^[36]

En lo que se refiere a la presencia de polifenoles totales, los resultados en la tabla 1 muestran que la hoja en el extracto metanólico contiene 20.36 ± 1.40 (mg equivalentes de catequina / 1 g muestra seca), en el fruto del extracto metanólico contiene 58.99 ± 1.14 (mg equivalentes de catequina / 1 g muestra seca), lo que se considera como cantidad significativa de polifenoles totales.

En presencia de polifenoles totales por infusión en las hojas contiene 25.63 ± 0.24 (mg equivalentes de catequina / 1 g muestra seca), y en la muestra de fruto el resultado fue 11.47 ± 0.38 (mg equivalentes de catequina / 1 g muestra seca) y en presencia de polifenoles totales mediante decoccto en hojas fue 15.19 ± 0.80 (mg equivalentes de catequina / 1 g muestra seca) y en el fruto fue 11.01 ± 1.16 (mg equivalentes de catequina / 1 g muestra seca), estos resultados se

considera como cantidad significativa. Podemos afirmar que mediante preparación de infusión los polifenoles totales se encuentran en mayor cantidad.

Reyes Munguia realizó un estudio en el 2007 donde reportaron que la cantidad de polifenoles totales encontrados en las hojas de Neem por infusión fue entre 60.59 – 64.73 (mg equivalentes de catequina / 1 g muestra seca) lo cual indica su alto contenido de polifenoles ^[6]

Los valores de polifenoles en las muestras secas varían porque dependen de los métodos para la extracción, donde para la obtención del extracto el solvente que se utilizó fue el metanol por su capacidad de solubilidad y su alta polaridad. Lo que se pretende es extraer los metabolitos secundarios de la muestra analizar. En el estudio realizado se observó que el contenido de polifenoles totales es mayor en el método del extracto metanólico a comparación con las muestras sometidos a infusión y decocción. ^[37]

En lo que respecta a la presencia de capacidad antioxidantes, los resultados que se observa en la tabla 2, muestran que la hoja de Neem en DPPH contiene 250 ± 7.10 y el fruto contiene 230.89 ± 9.03 (mM Trolox eq / g de muestra seca). En la capacidad antioxidante por infusión en hoja fue de 354.83 ± 1.86 y los resultados en el fruto fueron de 188.84 ± 23.56 (mM Trolox eq / g de muestra seca) y la muestra de hoja que fue sometida en decocción fue de 179.04 ± 1.10 y la muestra de fruto sometida obtuvo unos resultados de 169.50 ± 5.25 (mM Trolox eq / g de muestra seca); lo que se considera como cantidad significativa de capacidad antioxidante.

Gracias al método de DPPH (radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) este radical libre es susceptible de reaccionar con compuestos antioxidantes a través de un proceso caracterizado por la cesión de un átomo de hidrógeno proporcionado por el agente antioxidante ^[38], gracias a este método confirmamos que en las hojas de Neem en el proceso de infusión tuvo mejor resultados en cuanto a capacidad antioxidante.

Carrillo et al, en una evaluación que realizó en México sobre las propiedades antioxidante de Neem, afirma que en las hojas secas de dicha planta en infusión obtuvo una mayor liberación de compuesto activos con un valor de 33.10 (mM Trolox eq / g de muestra seca) ^[8], estos resultados fueron comparados con Fong et al, en una de sus investigaciones de la planta Neem en el año 2014, reporto que en las hojas de Neem se obtuvo una mayor liberación de capacidad antioxidante con un valor de 215.01 (mM Trolox eq / g de muestra seca) lo que permite afirmar que la hoja de Neem poseen significativas propiedades antioxidantes, hepatoprotectoras y quimiopreventivas contra el cáncer.

Fong et al, en su estudio de evaluar la capacidad antioxidante de Neem explica que el contenido de fenoles totales y de flavonoides determinan la capacidad antioxidante de la planta por tanto la actividad antioxidante de algunos extractos polares es debida, a la presencia de sustancias con grupos hidroxilos como los polifenoles, ya que estos ejercen su acción por donación de protones (capacidad secuestrante de radicales libres), o bien por interacción, adición o combinación de radicales o por reacciones redox (transferencia de electrones) ^[7]

La actividad antioxidante de Neem se manifiesta debido a la presencia de polifenoles y flavonoides, compuestos que están presentes en el reino vegetal.

Quercetina, es un flavonol que se encuentra presente en la planta de Neem, es el flavonoide más abundante y el más habitual en la dieta humana, destacando por su elevada actividad antioxidante, quercetina inhibe la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDLs) a través de la vitamina E, impidiendo que esta sea oxidada o regenerándola una vez que ha cumplido su función, también reduce el daño oxidativo en las estructuras neurovasculares de la piel. ^[39]

De tal manera, se puede decir que la acción conjunta de polifenoles y flavonoides contenidos en los extractos de hojas de Neem, dan soporte a la actividad antioxidante manifestada por esta planta, pudiendo estas ser las bases para la elaboración y futuro registro de un nuevo producto farmacéutico. ^[40]

VI. CONCLUSIONES:

6.1 CONCLUSIONES

- 1.** Se determinó la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de hojas y fruto de *Azadirachta indica*. “Neem”.
- 2.** Se determinó mayor contenido de polifenoles totales en el extracto metanólico del fruto de *Azadirachta indica*. “Neem” con 58.99 ± 1.14 (equivalentes de catequina / 1 g muestra seca).
- 3.** Se evaluó mayor capacidad antioxidante en el extracto de infusión, con un cantidad de 354.83 ± 1.86 (mM Trolox eq / g de muestra seca) , por lo que cabe resaltar que las infusiones de Neem son una buena fuente natural de antioxidantes y pueden ser una opción viable para la formulación de productos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1) Álvarez Cruz, Néstor S., and Bagué Serrano, Ana J. Tecnología farmacéutica. Alicante, ES: ECU, 2013. [citado el 15 de Octubre de 2017]. Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?docID=10803997>
- 2) Pozo G., Uso de las plantas medicinales en la comunidad del Cantón Yacuambi durante el periodo Julio-Diciembre 2011. [Tesis doctoral]. Ecuador; 2014. Universidad Técnica Particular de Loja. Disponible en: http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/6523/3/Pozo_Esparza_Gladys_Maria.pdf
- 3) Magaña A., et al. Uso de las plantas medicinales en las comunidades Mayachontales de Nacajuca, Tabasco, México. Polibotánica, núm. 29, marzo, 2010, pp. 213-262 Departamento de Botánica Distrito Federal, México. [citado 15 de Octubre de 2017]. Disponible en : <http://www.redalyc.org/pdf/621/62112471011.pdf>
- 4) Fong Lores Onel, Berenguer Rivas Clara, de la Vega Acosta Jorge, Wawoe Díaz Nioslaymy, Puente Zapata Edgar. Potencial antioxidante de un extracto acuoso de hojas del NIM (Azadirachta Indica A. Juss). Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2014 Jun [citado 2019 Sep 14]; 19(2): 205-207. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000200009&lng=es

- 5) Ávalos-Soto Joaquín, Treviño-Neávez Jaime Fco., Verde-Star Ma. Julia, Rivas-Morales Catalina, Oranday-Cárdenas Azucena, Moran-Martínez Javier et al . Cytotoxic evaluation of *Azadirachta indica* (A. Juss) ethanolic extracts against different cells lines. *Rev. mex. cienc. farm* [revista en la Internet]. 2014 Sep [citado 2019 Sep 14] ; 45(3): 39-44. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952014000300004&lng=es.
- 6) Reyes Munguía Abigail. Propiedades antioxidantes de infusiones de neem (*Azadirachta indica*) encapsuladas con proteína de soya. *Nova scientia* [revista en la Internet]. 2017 [citado 2019 Sep 14] ; 9(18): 167-185. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-07052017000100167&lng=es. <http://dx.doi.org/10.21640/ns.v9i18.819>.
- 7) Reyes A., Reyes A., Aguilar C. Carrillo M. Propiedades antioxidantes de infusiones de neem (*Azadirachta indica*) encapsuladas con proteína de soya. [Revista científica]. Universidad De La Salle Bajío (México) *Nova Scientia* ISSN 2007 - 0705, N° 18 Vol. 9 (1), 2017. pp: 167- 185 - 168 .[citado 15 de Octubre de 2017].Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/317106911_Propiedades_antioxidantes_de_infusiones_de_neem_Azadirachta_indica_encapsuladas_con_proteina_de_soya
- 8) Carrillo M., Reyes A., Reyes A. Evaluación de las propiedades antioxidantes del Neem (*Azadirachta indica*). [página en línea]. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. México. [citado 10 de Noviembre de 2017].Disponible en :

<http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/queretaro11/TRABAJOS/trabajos/III/carteles/CIII-45.pdf>

- 9) Flores Z et al. Potencial antioxidante de la semilla de *Swietenia humilis* Zuccarini. Rev. Cubana de farmacia. Universidad de la Habana. Cuba. 2017. Vol. 51 (1). Disponible en: <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/rt/printerFriendly/188/81?fbclid=IwAR2xKwIra6JOMyRgBCfyHr7mv2FTgHuSCYDsuo8FIZgRHOWR8rzqGgguFMo>
- 10) Berenguer Rivas Clara Azalea, Alfonso Castillo Alfredo, Salas Martínez Hilario, Puente Zapata Edgar, Betancourt Hernández Juan, Mora Tassé Yoandra. Toxicidad aguda oral de *Azadirachta indica* (árbol del Nim). Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2013 Sep [citado 2019 Oct 21]; 18(3): 502-507. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000300017&lng=es.
- 11) Cano W. Efecto del extracto etanólico de *azadirachta indica* (neem) sobre la viabilidad in vitro de *streptococcus mutans* atcc 25175. [tesis].Universidad Cesar Vallejo. Perú ;2017.[citado 16 de Octubre de 2017].Disponible en: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/730/cano_uw.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- 12) Hidalgo M. Obtención del aceite de semilla de Nim por extracción de gasolina natural.[tesis].Universidad de Guayaquil.Ecuador;2012.[citado 20 de Octubre de 2017].Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/752/1/NIM.pdf>

- 13) Álvarez R. Antioxidantes: Consumo de Antioxidantes Naturales en Adultos Mayores de entre 65 y 75 años con Dislipidemia. [tesis]. Universidad Abierta Interamericana. Argentina; 2013. [citado 18 de Noviembre de 2017]. Disponible en : <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112550.pdf>
- 14) Sáyago Ayerdi Sonia Guadalupe. Antioxidantes: En alimentos y Salud. Rev. fitotec. mex [revista en la Internet]. 2013 Sep [citado 2019 Sep 18] ; 36(3): 263-264. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000300012&lng=es.
- 15) Angulo J. “Caracterización y actividad antioxidante de propóleos de diferentes zonas apícolas de la provincia de Chimborazo utilizados en la empresa apicare - Riobamba”. [tesis]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador; 2014. [citado 21 de Noviembre de 2017]. Disponible en : <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3188/1/56T00426.pdf>
- 16) Venereo Gutiérrez Justo R.. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev Cub Med Mil [Internet]. 2002 Jun [citado 2019 Sep 18] ; 31(2): 126-133. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009&lng=es.
- 17) Delgado L., Betanzos G., Sumaya M., Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo, Investigación y Ciencia, 2010: 1(50):10-15. Disponible en: https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icsa/LI_NutriMole/Gabriel_Bet/importancia.pdf

- 18) Poggio Consumo de antioxidantes naturales en personas con dislipidemia.[tesis].Universidad Abierta Interamericana. Argentina; 2012. [citado 21 de Noviembre de 2017]. Disponible en : <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112329.pdf>
- 19) Avello M.; Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. [Página en línea]. **Atenea (Concepc.)**, n. 494, p. 161-172, 2006. [Citado 21 de Noviembre de 2017]. Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-04622006000200010&lng=es&nrm=iso
- 20) Viada Pupo Esther, Gómez Robles Lisvelt, Campaña Marrero Ibel Reyna. Estrés oxidativo. ccm [Internet]. 2017 Mar [citado 2019 Sep 18] ; 21(1): 171-186. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812017000100014&lng=es.
- 21) Gutierrez J., Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. [revista científica] Rev Cubana Med Milit 2002; 31(2):126-33. [citado 12 de Noviembre de 2017]. Disponible en : http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol31_2_02/MIL09202.pdf
- 22) Lozano Casanova Jorge, Barrios María Antonia, Pedrosa Amado Andrés. Radicales libres y antioxidantes, realidades y perspectivas. AMC [Internet]. 1997 Abr [citado 2019 Sep 18] ; 1(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02551997000200009&lng=es

- 23) Coronado H Marta, Vega y León Salvador, Gutiérrez T Rey, Vázquez F Marcela, Radilla V Claudia. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Rev. chil. nutr. [Internet]. 2015 Jun [citado 2017 Nov 28]; 42(2): 206-212. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182015000200014
- 24) Elejalde Guerra J.I.. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. An. Med. Interna (Madrid) [Internet]. 2001 Jun [citado 2019 Sep 18]; 18(6): 50-59. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992001000600010&lng=es
- 25) Lopez M. Caracterización de la fracción lipídica extractable de la semilla del árbol de Neem (*azadirachtin indica a. Juss*) obtenida a nivel laboratorio por lixiviación. [tesis]. Universidad San Carlos de Guatemala. Guatemala; 2012. [citado 21 de Noviembre de 2017]. Disponible: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1258_Q.pdf<http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>
- 26) Martínez- Valverde Isabel, Periago María Jesús, Ros Gaspar. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. ALAN [Internet]. 2000 Mar [citado 2019 Sep 18]; 50(1): 5-18. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222000000100001&lng=es

- 27) Giraldo Vásquez Lina Marcela, Ramírez Aristizabal Luz Stella. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de *Palicourea guianensis* (Rubiaceae). *Rev Cubana Farm* [Internet]. 2013 Dic [citado 2017 Nov 28] ; 47(4): 483-491. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152013000400008
- 28) Ruiz B. Propiedades Antioxidantes de los productos de la reacción de Maillard y su influencia en la absorción de hierro y cobre. Relación con la capacidad Quelantes de metales [tesis doctoral]. Universidad de Granada; 2009. [citad 25 de Noviembre de 2017]. Disponible en : <https://hera.ugr.es/tesisugr/17811880.pdf>
- 29) Rodríguez Capote Karina, Céspedes Miranda Ela. Estrés oxidativo y envejecimiento. *Rev Cubana Invest Bioméd* [Internet]. 1999 Ago [citado 2019 Sep 18] ; 18(2): 67-76. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03001999000200001&lng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03001999000200001&lng=es)
- 30) Gutiérrez D., Ortiz C., Mendoza A. Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. [Página en línea]. Universidad Autónoma de Querétaro. México; 2008. [Citado el 24 de Noviembre de 2017]. Disponible en: https://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf

- 31) Beltrán Delgado Yaixa, Morris Quevedo Humberto J, de la Cruz Enrique Reynaldo, Quevedo Morales Yanelis, Bermúdez Savón Rosa Catalina. Contenido de fenoles totales en extractos de Pleurotus obtenidos con solventes de diferente polaridad. Rev Cubana Invest Bioméd [Internet]. 2013 Jun [citado 2017 Dic 06] ; 32(2): 121-129. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002013000200001&lng=es
- 32) Tedeschi P., Maietti A. Vázquez E., Bonetti G., Bergantin C., Marchetti N. y Brandolini V. Una alimentación antigua funcional: El Ortico. Art. Nutracético de Ortiga. Italia. 2018. Disponible en: <https://www.natural1.it/nutraceutica/item/download/2134>
- 33) MNCN Determinación colorimétrica de compuestos fenólicos en agua mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu. [Página en línea]. PNT N°12. [Citado 24 de Noviembre de 2017]. Disponible en: http://www.mcn.csic.es/docs/repositorio//es_ES//investigacion/cromatografia/fenoles_en_agua_por_folin.pdf
- 34) Comité Institucional de ética en investigación. Código de ética para la investigación. Universidad católica los Ángeles de Chimbote. Perú. 2016. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>

- 35) García E, Fernández I, Fuentes A, Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, Departamento de Tecnología de Alimentos ETSIAMN. Universitat Politècnica de Valencia 2015. Disponible en : <https://riunet.upv.es/handle/10251/52056>
- 36) Cruzado, Martín, Pastor, Ana, Castro, Nino, & Cedrón, Juan Carlos. Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.). Revista de la Sociedad Química del Perú, 79(1), 57-63.[citado Enero de 2013]. Disponible en http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2013000100008&lng=es&tlng=es.
- 37) Guija E. , Inocente M.,Pardo J.Norabuena E. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante.[pagina en línea]. Horiz Med 2015; 15 (1):57-60.[citado 24 de Noviembre de 2017]. Disponible en <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf>
- 38) Berenguer Rivas Clara Azalea, Alfonso Castillo Alfredo, Fong Lores Onel, Domínguez Odio Aníbal, Betancourt Hernandez Juan E., Laramendi Griñan Dani et al . Toxicidad a dosis repetidas de *Azadirachta indica* A. Juss. (árbol del Nim). Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2010 Sep [citado 2017 Dic 06]; 15(3): 143-151. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000300006&lng=es

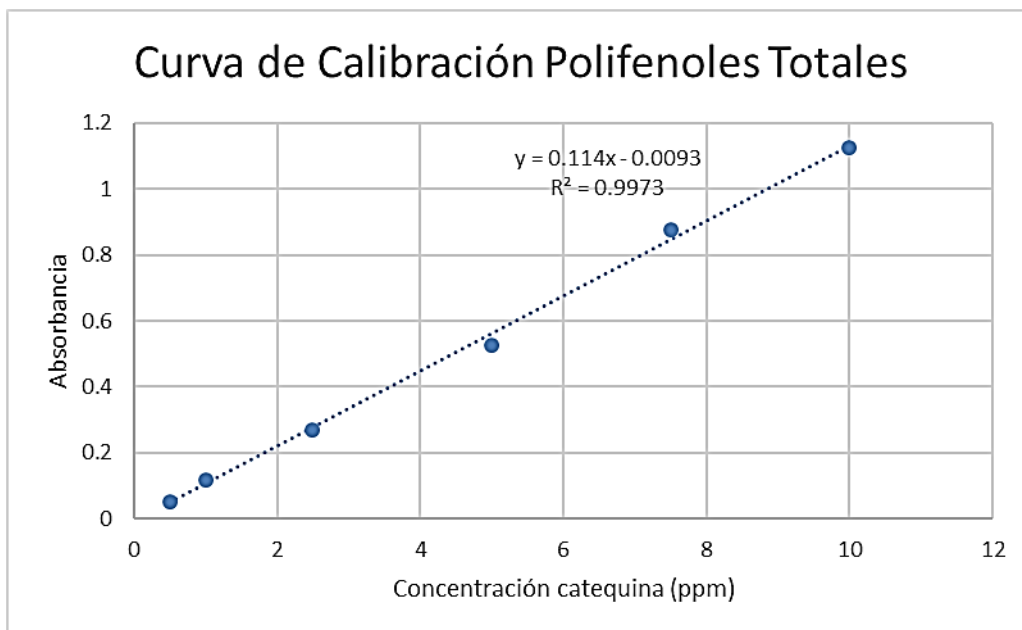
- 39) Pérez Trueba Gilberto. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. Rev Cubana Invest Bioméd [Internet]. 2003 Mar [citado 2019 Oct 18] ; 22(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002003000100007&lng=es
- 40) Duarte Juan, Pérez-Vizcaíno Francisco. Protección cardiovascular con flavonoides: enigma farmacocinético. Ars Pharm [Internet]. 2015 Dic [citado 2019 Oct 21] ; 56(4): 193-200. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2340-98942015000400002&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4321/S2340-98942015000400002>.

ANEXOS

Anexo 01

Gráfico de polifenoles totales

- **Curva de calibración de polifenoles totales utilizando catequina como estándar a 700 nm.**

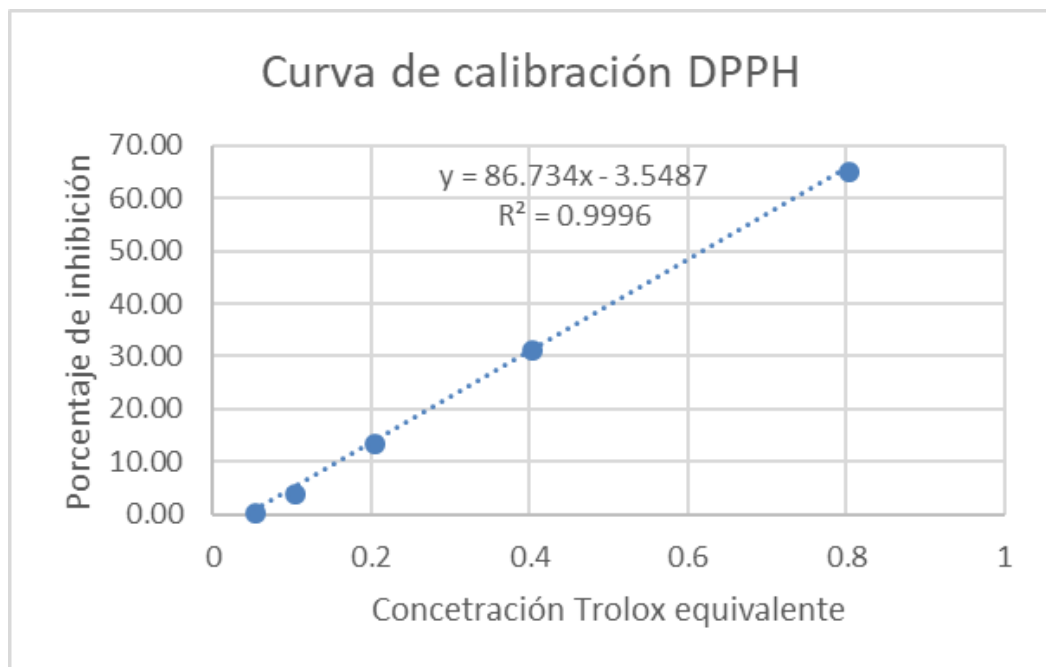


Fuente: Datos obtenidos directamente del laboratorio de la Universidad Los Angeles de Chimbote

Anexo 02

Gráfico de DPPH totales

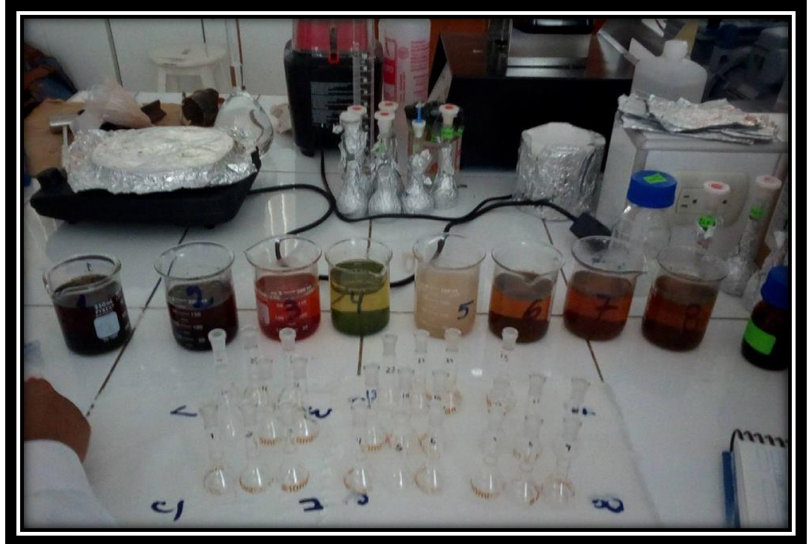
- **Curva de calibración del DPPH totales utilizando Trolox como estándar a 515 nm.**



Fuente: Datos obtenidos directamente del laboratorio de la Universidad Los Ángeles de Chimbote

Anexo 03

Fotografías de la metodología



06/07/18

Poliphenoles Totales Infusión

Fido	Muestra	Volumen	Abs	ppm
1	blanca	-	0,066	
2	POHTH1	100	0,121	
3	POHTH2	100	0,143	
4	POHTH3	100	0,143	
5	POHTT1	100	0,084	
6	POHTT2	100	0,086	
7	POHTT3	100	0,084	
8	KLR1	50	0,444	
9	KLR2	50	0,451	
10	KLR3	50	0,450	
11	AIF1	200	0,593	
12	AIF2	200	0,585	
13	AIF3	200	0,582	
14	AIF1	200	0,264	
15	AIF2	200	0,277	
16	AIF3	200	0,282	
17	SPCYH1	100	0,480	
18	SPCYH2	100	0,487	
19	SPCYH3	100	0,505	
20	SPCYF1	100	0,253	
21	SPCYF2	100	0,274	
22	SPCYF3	100	0,278	
23	SPCYT1	100	0,407	
24	SPCYT2	100	0,421	
25	SPCYT3	100	0,424	
26	KLR1	25	0,532	
27	KLR2	25	0,560	
28	KLR3	25	0,560	

01034 - blanco

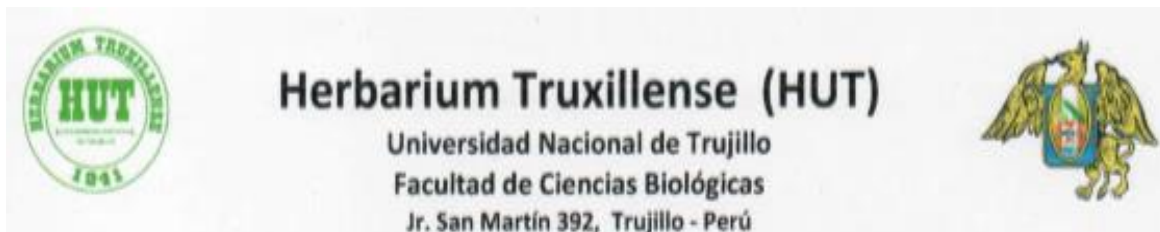
longitud de onda 515

06/07/18

Muestra	Dil	Abs T _o	Abs T _{15'}	% inh
POHTH1	1:10	0,306	0,267	
POHTH2	1:10	0,314	0,262	
POHTH3	1:10	0,307	0,250	
POHTT1	1:10	0,303	0,273	
POHTT2	1:10	0,316	0,283	
POHTT3	1:10	0,313	0,277	
KLR1	1:100	0,317	0,253	
KLR2	1:100	0,326	0,253	
KLR3	1:100	0,313	0,248	
AIF1	1:100	0,308	0,162	
AIF2	1:10	0,312	0,220	
AIF3	1:10	0,313	0,231	
AIF1	1:10	0,324	0,283	
AIF2	1:10	0,311	0,239	
AIF3	1:10	0,304	0,256	
AIF1	1:10	0,297	0,097	

Anexo 04

Taxonomía e inscripción del espécimen vegetal



EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae
- Super Orden: Rosanae
- Orden: Sapindales
- Familia: Meliaceae
- Género: ***Azadirachta***
- Especie: ***A. indica*** A. Juss.
- Nombre común: "neem"

Muestra alcanzada a este despacho por MARISOL CRISTINA CIPIRAN VASQUEZ, identificada con DNI: 71743628, con domicilio legal en Villa María, Mz. T', Lote 9, Nuevo Chimbote. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización de la Tesis: "Evaluación de la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles del extracto de las hojas y del fruto de ***Azadirachta indica*** "neem" ".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 22 de octubre del 2019



Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT

