

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

# ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE POLIFENOLES EN FLOR DE Cordia lutea Lam (FLOR DE OVERO)

# TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

#### **AUTOR:**

CASIO RAMIREZ ONAN JOSUÉ

**ASESOR:** 

Mgtr. ZEVALLOS ESCOBAR LIZ ELVA

CHIMBOTE - PERÚ

2018

# ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE POLIFENOLES EN FLOR DE Cordia lutea Lam (FLOR DE OVERO)

#### JURADO EVALUADOR

Dr(a). DIAZ ORTEGA JORGE LUIS PRESIDENTE Mgtr. RAMIREZ ROMERO TEODORO WALTER **MIEMBRO** Mgtr. VASQUEZ CORALES EDISON **MIEMBRO** Mgtr. ZEVALLOS ESCOBAR LIZ ELVA **ASESOR** 

#### **DEDICATORIA**

El presente informe de investigación está dedicada a Dios y a mis padres a mi familia y a la familia de mi amigo, quienes me brindaron su apoyo en todo momento y depositaron su confianza en mí, son los pilares de mi vida y de esta manera hacerles sentir orgullosos de que estoy cumpliendo mis objetivos y esto es un paso más en el camino hacia mis metas trazadas.

A todos mis seres queridos fueron quienes me impulsaron a seguir adelante a pesar de todos los obstáculos culminé con la elaboración y realización de mi tesis.

#### **AGRADECIMIENTO**

Con la Directora de escuela por abrirnos la puerta de esta Universidad ULADECH CATÓLICA, y siempre estaba ahí dispuesta en apoyarnos, y de esta manera poder recibir las enseñanzas y conocimientos de todos los decentes que laboran.

Para la elaboración del presente informe de investigación tuve el apoyo de la Dra. LIZ ZEVALLOS ESCOBAR quien fue nuestra asesora, y del Dr. EDISON VÁSQUEZ CORALES con quienes estoy muy agradecido porque nos brindaron todo tu apoyo y su tiempo para de esta manera nosotros poder realizar nuestra tesis y estoy muy orgulloso de tener excelentes docentes, quienes contribuyeron en nuestra formación como futuros Químicos Farmacéuticos, quienes todos los días cumplen la ardua labor de enseñarlos e inculcarnos los buenos valores, compartiendo sus amplios conocimientos.

RESUMEN

En la actualidad hay una gran diversidad de plantas, las cuales en su mayoría son

utilizadas con fines medicinales, para ello se vienen realizando muchos estudios que

demuestran una efectividad terapéutica. La especie Cordia lutea Lam, al cual también se

le conoce con el nombre de Flor de Overo, pertenece a la familia de las Boraginaceae, es

reconocida por su uso medicinal ya que se le atribuyen diversas propiedades terapéuticas.

El objetivo del estudio es determinar la actividad antioxidante y contenido de polifenoles

en flor de Cordia lutea Lam (Flor de Overo). En la presente investigación se realizó una

extracción exhaustiva, a partir de la muestra seca de la Flor de Overo para determinar el

contenido de polifenoles según el método de Follin Ciocalteu y su actividad antioxidante

según el método DPPH. Los resultados obtenidos muestran que el contenido de

polifenoles en flores de Cordia lutea Lam fueron de 50.80 ± 1.5582 mg de catequina

Equivalente/g de Flor seca, para la actividad antioxidante en las flores de Cordia lutea

Lam se obtuvo 150 ± 12.99 mM con respecto al Trólox Equivalente/g de flor seca. Se

concluye que las flores de Cordia lutea Lam presentan contenido de polifenoles y

actividad antioxidante.

**Palabras clave:** *Cordia lutea Lam*, Flor de Overo, polifenoles, antioxidante.

٧

**ABSTRACT** 

At present there is a great diversity of plants, which are mostly used for medicinal purposes,

for which many studies are being carried out that demonstrate a therapeutic effectiveness.

The species Cordia lutea Lam, which is also known by the name of Flor de Overo, belongs

to the family of the Boraginaceae, is recognized for its medicinal use since it is attributed

various therapeutic properties. The objective of the study is to determine the antioxidant

activity and content of polyphenols in flower of Cordia lutea Lam (Flor de Overo). In the

present investigation an exhaustive extraction was carried out, from the dry sample of the

Flor de Overo to determine the content of polyphenols according to the Folin Ciocalteu

method and its antioxidant activity according to the DPPH method. The obtained results

show that the content of polyphenols in Cordia lutea Lam flowers were  $50.80 \pm 1.5582$  mg

of catechin Equivalent / g of dried flower, for the antioxidant activity in the flowers of *Cordia* 

lutea Lam was obtained  $150 \pm 12.99$  mM with respect to the Trólox Equivalent / g of dry

flower. It is concluded that the flowers of Cordia lutea Lam present polyphenol content and

antioxidant activity.

**Key words:** Cordia lutea Lam, Overo flower, polyphenols, antioxidant

vi

### ÍNDICE

1.	Título de la tesis	Pág. II
2.	Hoja de firma del jurado y asesor	Pág. III
3.	Hoja de agradecimiento y/o dedicatoria	Pág. IV
4.	Resumen	Pág. V
5.	Abstract	Pág.VI
6.	Índice	Pág. VII
7.	Índice de gráficos, tablas y cuadros	Pág. VIII
I.	Introducción	Pág. 1
II.	Revisión de literatura	Pág. 5
III.	Hipótesis	Pág. 16
IV.	Metodología	
	4.1 Diseño de la investigación	Pág. 17
	4.2 Población y muestra	Pág. 20
	4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores	Pág. 21
	4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	Pág. 22
	4.5 Plan de análisis	Pág. 22
	4.6 Matriz de consistencia	Pág. 23
	4.7 Principios éticos	Pág. 24
V.	Resultados	
	5.1 Resultados.	Pág. 25
	5.2 Análisis de resultados	Pág. 27
VI.	Conclusiones.	Pág. 30
Re	ferencias bibliográficas	Pág. 31
An	exos	Pág. 36-41

## INDICE DE GRÁFICOS, TABLAS Y CUADROS

Grafico 01 Flor de Cordia lutea Lam	pág. 7
Tabla 01 Contenido de Polifenoles	pág. 24
Tabla 02 Capacidad antioxidante	pág. 25
Anexo 01 Certificado de la planta	pág. 36
Anexo 02 Curva de calibración de Polifenoles Totales	pág. 37
Anexo 03 Curva de calibración de DPPH	pág. 37
Anexo 04,05,06,07 Recolección de la planta	pág. 38
Anexo 08 Secado	pág. 39
Anexo 09 y 10 Muestra triturada	pág. 39
Anexo 11 Ubicación del lugar donde se recolectó la muestra	pág. 40

#### I. INTRODUCCIÓN

El uso de las plantas medicinales o medicamentos herbarios, ha sido empleado desde los inicios de la humanidad, y hasta hoy en día son utilizados, en las cuales se siguen realizando estudios para que así se pueda determinar su uso farmacéutico y clínico. Ya que el uso de las plantas no solo se emplea directamente, sino que también sirve como base para la composición de los medicamentos, ya sea como un principio activo<sup>(1)</sup>.

El uso de la medicina tradicional con plantas medicinales es para prevenir o tratar enfermedades crónicas, dolencias y de esta manera contribuir a mejorar la salud de la población. Un ejemplo claro de ello es el uso de la acupuntura en las cuales se ha comprobado que es eficaz para tratar las náuseas y el dolor <sup>(2)</sup>.

La medicina tradicional es muy empleada en países subdesarrollados, mientras que la medicina complementaria y alternativa, se va incrementando en países desarrollados<sup>(3)</sup>. En las cuales se dan diversas prácticas, creencias; que van a provenir de plantas, animales, terapias espirituales, ejercicios, que son aplicados en combinación o sola para que de esta manera se logre mejorar la calidad de vida de la población. En Latinoamérica, Asia y África las poblaciones emplean la medicina tradicional de acuerdo a sus necesidades, además su uso se debe a que son más accesibles y a su vez debido a su bajo costo<sup>(4)</sup>.

La Flor de overo cuyo nombre científico es *Cordia lutea Lam*, la cual pertenece a la familia de las Boraginaceae, cuya distribución se da en provincias como, Galápagos, Los Ríos, Esmeralda, también se le puede encontrar en la sierra de Ancash- Yungay. Esta planta es un arbusto que llega a crecer hasta 6m de longitud y tiene un diámetro de 15 cm. Presente una corteza de coloración parda, que posee grietas que están ubicados en forma

vertical. Tiene hojas simples y ovadas; flores que presentan una coloración amarilla y frutos de coloración crema y su reproducción es por semilla y tiene la peculiaridad de rebrotar. Otras propiedades o usos medicinales que posee son de ser diurético, y también lo emplean para las afecciones hepáticas<sup>(5)</sup>.

También presenta otras propiedades como: analgésica, antialérgica, antiséptica, cicatrizantes, astringente y antiespasmódica. Esta planta tiene un fruto, que es la goma lo cual lo utilizan como fijador del cabello<sup>(6)</sup>.

Los Antioxidantes son sustancias que se encuentran en menor concentración en comparación con el sustrato a oxidar. Los cuales tienen como función prolongar y prevenir el proceso de oxidación. El sustrato es toda molécula ya sea inorgánica e orgánica, que van estar presentes en células vivas, en forma de lípidos, proteínas, moléculas de ADN e hidratos de carbono. Los antioxidantes limitan que las moléculas se adhieran al oxígeno, ya que presentan una reacción mucho más rápida con los radicales libres de oxígeno. El objeto del antioxidante es de ofrecer su integridad molecular de esta manera se pueden eludir alteraciones de las moléculas, ADN, proteínas, lípidos. Todo ello conlleva a lograr una estabilidad antioxidante- pro oxidante (7).

Los antioxidantes son indispensables para nuestro organismo ya que ayudan a disminuir las enfermedades neurodegenerativas, causadas por los radicales libres, presentan beneficios para el daño gástrico y hepático, hay estudios de los antioxidantes referido a la anemia, pancreatitis, artritis reumatoidea, síndrome metabólico, asma, dermatitis y resequedad de la piel<sup>(8)</sup>.

Los radicales libres son moléculas que presentan una inestabilidad debido a su gran energía con electrones que están desapareados en su dominio externo, y tienen la capacidad de reaccionar con diversos compuestos, entre ellos están presentes los ácidos grasos poliinsaturados. Por ende si hay un electrón desapareado se vuelve inestable, debido a ello la importancia de estar apareado. Los radicales libres son de corta vida pero llegan a producir un gran daño a las moléculas de nuestro organismo, dañando tejido conjuntivo, enzimas, lípidos, proteínas, fibras de colagen, ARN y ADN, membranas celulares, todo ello llega a producir enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares, y cáncer. Estos radicales son productos de células fagocíticas, como son los macrófagos, neutrófilos y monocitos. La excesiva producción de los radicales libres las cuales no tienen ningún control va a llegar a producir el estrés oxidativo (9).

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de la planta, que tiene efecto antioxidante, lo cual les da la capacidad de poder intervenir en reacciones metabólicas de óxido-reducción. Dentro de los grupos que pertenecen a los polifenoles son: Estilbenos, acidos fenólicos, flavonoides, lignanos y alcoholes fenólicos. <sup>(6)</sup>

La mayor cantidad de polifenoles se encuentran en los alimentos como glucósidos. Los polifenoles en el proceso de absorción presentan varios cambios, ya que estos compuestos tienen que conjugarse en las células presentes en el intestino, luego de ello ocurren procesos de sulfatación y glucoronidación que se da en el hígado y por ultimo pasa por un proceso de metilación. Lo que determina la absorción de los polifenoles no depende de la concentración sino depende de su estructura química. Los polifenoles tiene acción, vasoprotectora, vasodilatadora, como también antilipémicas, antitrombóticas, antiinflamatorias, antiescleróticas. Los antioxidantes más importantes de la dieta son los

polifenoles, ya que su ingesta es 10 veces mayor que la vitamina C, productos como te, cacao, vino, tienen alto contenido de polifenoles, lo cual su ingesta es importante y necesario para así nuestro organismo aumente la protección antioxidante<sup>(10)</sup>.

#### Esta investigación pretende:

#### Objetivo general

- Determinar la actividad antioxidante y contenido de polifenoles en flor de *Cordia lutea Lam* (Flor de Overo).

#### Objetivos específicos

- Determinar el contenido de polifenoles equivalente a mg catequina/g de flor seca de Cordia lutea Lam (Flor de Overo) mediante el método de Folin -Ciocalteu.
- Determinar la actividad antioxidante equivalente a mM Trólox /g de flor seca de Cordia lutea Lam (Flor de Overo) mediante el método DPPH.

#### II. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 ANTECEDENTES

Un estudio realizado en la familia de las boraginaceae, en las flores de *Wigandia urens var Caracasana*, que se llevó a cabo mediante el método de DPPH, para evaluar la capacidad antioxidante en la cual el peso de la muestra fue de 100gr, mientras que el peso de la alícuota fue de 1.006 gr, se reconstituyo con un volumen de 10mL, con un factor de disolución de 1:5, mostrando una capacidad antioxidante de 1.8178±0.4021 /mg de extracto seco. (11)

Otro estudio realizado en hojas de *Cordia lutea Lam*, en el que se trabajó con ratas que fueron expuestas a tetracloruro de carbono (CCl4). En ello se trabajó con 4 grupos, el grupo I (blanco), grupo II (control), siendo los más significativos dos grupos problemas, al grupo III (problema I) se le administro una cantidad de 10mg/kg de flavonoides totales, mostrando aun niveles altos de la enzima Alanina Aminotransferasa (ALT) y bilirrubinas indirectas (BI), bilirrubinas directas (BD), bilirrubinas totales (BT), referente a los valores normales. Mientras que al grupo IV (problema II) se le administro una cantidad de 20mg/kg de flavonoides totales, mostrando valores similares a los normales. Los flavonoides totales de las hojas de *Cordia lutea Lam* mostraron un efecto hepatoprotector.

Un estudio refiere que la rosa de Hamaica, que pertenece a la especie *Hibiscus sabdariffa*, en el cual se han realizado diversos estudios para así de esta manera se pueda determinar la presencia de grupos fenólicos, en ello afirma que estudios realizados mostraron resultados de gran contenido de antioxidantes, que tiene la capacidad de impedir la oxidación. En cual fue necesario la utilización del método Follin Ciocalteu para así de esta manera cuantificar los grupos fenólicos, para ello se realizó pruebas de precipitación y de coloración, también se llegó a identificar antocianinas, taninos, y finalmente por el método de DPPH se logró determinar su actividad antioxidante. (13)

Se realizó un estudio en la Ortega (*Calia Secundiflora*) debido a que tiene efecto antioxidante, ello se debe a que presenta siete glicósidos, de kaenferol, quercetina, e isoramnetina. El cual tuvo como objetivo determinar el contenido de flavonoides en hojas, el cual es el responsable de conferirle el efecto antioxidante que se llevó a cabo por el método de DPPH, el estudio demostró que hubo mayor presencia de grupos fenólicos. (14)

Un estudio que se realizó en el extracto de la manzana afirma que presenta efecto antioxidante, en las cuales las variedades a analizar fueron Winter Permain, Winter Banana y por ultimo Blanca Asturias, en cada una de ellas se aplicó una fracción oleosa que se obtuvo del hexano, y los resultados cambiaron de acuerdo a la variedad, entre ellas resaltando la Blanca Asturias, quien tuvo mayor contenido y capacidad de retener al radical DPPH. (15)

En el árbol de Nim se llevó a cabo estudios de investigaciones sobre la capacidad antioxidante, ello se realizó en las hojas secas mediante extractos acuosos, para ello fue necesario emplear el equipo Soxhlet. Para la determinación de polifenoles se empleó el

método de Folin Ciocalteu y su efecto antioxidante se realizó mediante un reactivo llamado Fosfomolibdeno, al finalizar el estudio se demostró que el Arbol de Nim tiene efecto antioxidante. (16)

En este estudio se empleó la especie *Symphytum officinale L*, para así determinar el efecto antioxidante, la parte de interés de la planta fueron la hojas secas, que posteriormente fueron pulverizadas y se llevaron a cabo extracciones reiteradas con etanol y hexano, se utilizó la hidrodestilación para la obtención de aceites, el cual tiene capacidad de atrapar radicales, y por ende ayuda a la regeneración de tejidos y los dolores musculares. (17)

#### 2.2 BASES TEÓRICAS DE LA INVESTIGACIÓN

#### Taxonomía de la Cordia lutea Lam

• Nombre común: Flor de Overo

• Nombre científico: *Cordia lutea Lam* 

• Reino: plantae

• Clase: Magnoliopsida

• Orden: Lamiales

• Familia: Boraginaceae

• Género: Cordia

• Especie: Cordia lutea

#### **GRÁFICO 01**



Fuente Del Investigador

Sinónimos: Cordia flava (Andersson) Gurke,

Varronia flava Andersson, Cordia Narchionica drake, Lithocardium flavum (Anderson) Kuntze.

**Nombres vulgares:** alkka mallki, biyuyo, gomo, murciélago, gomo amarillo, caujaro, muyuyo. <sup>(6)</sup>

La *Cordia lutea Lam* pertenece a la familia de los Boraginaceaes, como son los arbustos, arboles, trepadoras, perennes o anuales en su mayoría pubescentes. Las hojas son simples, alternas y pocas veces opuestas, presentan inflorescencias cimosas, ya sea elicoides o escorpioides, que crecen en su madurez, reunidas con aspectos espigadas o decapitadas, y sus flores son pentámeras, actinomorfas, bisexuales, hipóginas, simpétala y cáliz acrescente. (18)

#### Características botánicas:

En su mayoría son arbustos, crecen 4m de altura, rara vez que son pequeñas, tiene de 10-20cm de diámetro. Es una planta bastante ramificada, su corteza caracterizada por su color pardo oscuro y muy agrietado en su forma vertical.

- ✓ **Flores:** Son de color amarrillo muy claro, tienen forma encampanada, que son grandes y están unidos en panículas, son actinomorfas, presentan 8 estambres, y un ovario supero, y tiene de 10-40 flores por grupo.
- ✓ Hojas: Son alternas, simples, elípticas o redondeadas, que miden de 3-7cm. En el envés presenta hirsutos y pelos cerosos que lo hacen áspero, con un ápice redondo, el tipo de consistencias que presenta es cortácea y las ambas partes de las hojas son pubescentes.
- ✓ **Frutos:** Son bayas que tienen un color blanco, que poseen un sabor dulce y son globosas.
- ✓ **Semillas:** En su interior presentan 2 semillas que son duras, en forma ovoide y son leñosas. Su reproducción se da a través de las semillas y tienen la capacidad de rebrotar. (19)

#### Descripción:

La *Cordia lutea Lam* presenta un gran crecimiento rápido durante el año, pero en su mayoría es de febrero a abril, los brotes logran su desarrollo de enero a junio, la etapa de floración en su mayoría es de diciembre a junio y sus frutos se desarrollan a lo largo del mes de agosto, logrando frutos maduros y verdes. (20)

#### Distribución y ecología:

Se encuentran de Bolivia a Colombia y crecen en bosques secos, y se encuentran a una altura de 1500 msnm. Esta especie es muy característica de Pacaypampa, Simiris y también se encuentra en la sierra de Ancash-Yungay. Esta especie pertenece a zonas cálidas, lo cual es muy importante para lograr un buen desarrollo. <sup>(6)</sup>

#### **Usos medicinales:**

Las flores de esta planta son utilizadas por tratar enfermedades hepáticas, y en infusión la utilizan como diurética, también la emplean como cicatrizante y para dolores renales.

(18)

También presenta otras propiedades como: analgésica, antialérgica, antiséptica, cicatrizantes, astringente y antiespasmódica. Esta planta tiene un fruto, que es la goma lo cual lo utilizan como fijador del cabello. <sup>(6)</sup>

#### **ANTIOXIDANTES**

Los Antioxidantes son sustancias que se encuentran en menor concentración en comparación con el sustrato a oxidar. Los cuales tienen como función prolongar y prevenir el proceso de oxidación. El sustrato es toda molécula ya sea inorgánica e orgánica, que van estar presentes en células vivas, en forma de lípidos, proteínas, moléculas de ADN e hidratos de carbono. Los antioxidantes limitan que las moléculas se adhieran al oxígeno, ya que presentan una reacción mucho más rápida con los radicales libres de oxígeno. El objeto del antioxidante es de ofrecer su integridad molecular de esta

manera se pueden eludir alteraciones de las moléculas, ADN, proteínas, lípidos. Todo ello conlleva a lograr una estabilidad antioxidante- pro oxidante <sup>(7)</sup>.

Los antioxidantes son indispensables para nuestro organismo ya que ayudan a disminuir las enfermedades neurodegenerativas, causadas por los radicales libres, presentan beneficios para el daño gástrico y hepático, hay estudios de los antioxidantes referido a la anemia, pancreatitis, artritis reumatoidea, síndrome metabólico, asma, dermatitis y resequedad de la piel<sup>(8)</sup>.

#### **RADICALES LIBRES**

Los radicales libres son moléculas que presentan una inestabilidad debido a su gran energía con electrones que están desapareados en su dominio externo, y tienen la capacidad de reaccionar con diversos compuestos, entre ellos están presentes los ácidos grasos poliinsaturados. Por ende si hay un electrón desapareado se vuelve inestable, debido a ello la importancia de estar apareado. Los radicales libres son de corta vida pero llegan a producir un gran daño a las moléculas de nuestro organismo, dañando tejido conjuntivo, enzimas, lípidos, proteínas, fibras de colagen, ARN y ADN, membranas celulares, todo ello llega a producir enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares, y cáncer. Estos radicales son productos de células fagocíticas, como son los macrófagos, neutrófilos y monocitos. La excesiva producción de los radicales libres las cuales no tienen ningún control va a llegar a producir el estrés oxidativo (9).

#### **COMPUESTOS FENÓLICOS**

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de la planta, que tiene efecto antioxidante, lo cual les da la capacidad de poder intervenir en reacciones metabólicas de óxido-reducción. Dentro de los grupos que pertenecen a los polifenoles son: Estilbenos, ácidos fenólicos, flavonoides, lignanos y alcoholes fenólicos (10).

#### **POLIFENOLES**

Son compuestos químicos biosintetizados por las plantas, los cuales tienen uno o varios grupos hidroxilos, que están unidos a uno o varios anillos bencénicos. La mayor cantidad de polifenoles se encuentran en los alimentos como, glucósidos. Los polifenoles en el proceso de absorción presentan varios cambios, ya que estos compuestos tienen que conjugarse en las células presentes en el intestino, luego de ello ocurren procesos de sulfatación y glucoronidación que se da en el hígado y por ultimo pasa por un proceso de metilación. Lo que determina la absorción de los polifenoles no depende de la concentración sino depende de su estructura química. Los polifenoles tiene acción, vasoprotectora, vasodilatadora, como también antilipémicas, antitromboticas, antiinflamatorias, antiescleróticas. Los antioxidantes más importantes de la dieta son los polifenoles, ya que su ingesta es 10 veces mayor que la vitamina C, productos como te, cacao, vino tienen alto contenido de polifenoles, lo cual su ingesta es importante y necesario para así nuestro organismo aumente la protección antioxidante<sup>(10)</sup>.

#### ESTRÉS OXIDATIVO

El oxígeno es muy importante e indispensable para la supervivencia de los seres vivos, a pesar de ello se producen las ROS (Especies Reactivas del Oxigeno), al igual que los RL (Radicales Libres), y su metabolismo es inevitable para los seres vivos aeróbicos, estas especies son las que producen la oxidación y por ende causan daño en las moléculas las cuales son muy importantes para que el buen funcionamiento del organismo, como son los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Para ello el organismo presenta varios tipos de mecanismos para su defensa es decir para que actué frente a las sustancias oxidantes. Los antioxidantes pueden verse afectados debido a la mayor concentración de ROS, por ende se puede decir que el estrés oxidativo es cuando hay una alteración en el equilibrio entre el antioxidante y el oxidante, lo cual trae como consecuencias enfermedades, y el envejecimiento. (21)

#### **ESPECIES OXIDANTES:**

Es aquella especie que tiene la capacidad de captar electrones, lo cual va producir un desequilibrio entre las moléculas cercanas. Una antioxidantes es toda sustancia que se puede presentar en mínima cantidad que la del sustrato, y presenta el mismo efecto lo cual previene y retrasa la oxidación del sustrato. Los radicales libres son aquellas sustancias químicas que tienen uno o más electrones desapareados, por ello tiene una mayor inestabilidad e reactividad, por lo cual va buscar estabilizarse, durante este proceso se va producir una serie de reacciones (21)

# TÉCNICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

#### Método Folin Ciocalteu

El reactivo de F-C (Follin Ciocalteu) emplea un mecanismo de reacción de oxidación/reducción, el ensayo de F-C mide la capacidad para reducir el reactivo de ácido fosfomolibdico/fosfotungstico a un complejo azul que se observa a través del espectrofotómetro, donde el molibdeno es reducido en el complejo y se produce la reacción de transferenciencia de electrones entre el Mo(iv) y el reductor. Este método se utiliza para la oxidación de fenoles en una solución alcalina por el heteropolianión molibdotungstofosfórico amarillo y la medición colorimétricadel molibdotungstofosfato azul resultante. (22)

Según Barrón Yánez Rosario M. et al. <sup>(8)</sup> A 0.5 mL del extracto etanólico se le adicionará 10 mL de una solución de Carbonato de Sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) a 10 % y se incubará a 38 °C por 15 min. Se tomará 1 mL de esta mezcla, a la que se le adicionará 3 mL de agua y 1 mL del reactivo de Folín Ciocalteu: agua 1:1 v/v. La mezcla se dejará reposar por 15 min en oscuridad. Finalmente se tomará lectura de la absorbancia a 660 nm en un espectrofotómetro. La concentración se calculará a partir de una curva patrón elaborada con fenol. Cada análisis se efectuará por triplicado. El contenido total de fenólicos en el extracto se expresará en mg de equivalentes de fenol por g de materia seca (mg g–1 MS).

#### **DPPH** (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo):

Es una molécula que posee un radical libre que se encuentra estable esto se debe a lo deslocalización de uno de sus electrones que esta desapareado, por ello la molécula no se dimeriza, como se dan en la mayoría de los radicales libres. Cuando se produce la deslocalización del electrón se presenta un color violeta intenso lo cual es normal del radical, y se absorbe en metanol a 517 nanómetros (nm). Cuando el sustrato antioxidante reacciona con la solución de DPPH al cual le cede un átomo de hidrogeno y por ende el color violeta intenso disminuye. Este cambio de color podemos observarlo en un espectrofotómetro la cual se utiliza para determinar los parámetros de la actividad antioxidante. En la cual el tiempo de reacción es de 20-30 min. (22)

#### Método de DPPH

Según Kuskoski, E. Marta et al.  $^{(16)}$  Se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515 nm del radical DPPH\*, por antioxidantes. Se basa en la medida de la absorbancia del radical DPPH\* 100  $\mu$ M (3,9 mL) disuelto en metanol al 80%, a la longitud de onda de 517 nm. Se añade 0,1 mL de la muestra o patrón, la mezcla se homogeniza cuidadosamente, y se mantiene en la oscuridad durante 30 minutos. Las medidas de absorbancia a 517 nm se realizan antes de añadir la muestra (A<sub>0</sub>) y pasados los 30 y 60 minutos (A<sub>f</sub>). La concentración de DPPH\* en el medio de reacción se calcula a partir de una curva de calibrado obtenida por regresión lineal. Los resultados se expresan en TEAC ó Actividad Equivalente a Trólox ( $\mu$ M/g de muestra peso fresco).

El antioxidante sintético de referencia Trólox, a una concentración de 0,08-1,28 mM en disolución de metanol al 80%, se ensaya en las mismas condiciones, expresándose los resultados en TEAC. (23)

#### III. HIPÓTESIS

El presente informe tiene una hipótesis implícita.

#### IV. METODOLOGÍA

#### 4.1 Diseño de la investigación.

El presente trabajo de investigación correspondió a un estudio de tipo descriptivo.

El nivel de investigación fue de enfoque cuantitativo, por tanto, permite la enumeración y medición a través de las matemáticas, la misma que debe ser sometida a los criterios de la confiabilidad y validez; busca reproducir numéricamente las relaciones entre los objetivos y fenómenos y, por lo general se la relaciona con los diseños denominados tradicionales o convencionales, por ello, el análisis cuantitativo de contenido es condición indispensable para la valoración cuantitativa.

#### 4.1.1 Recolección secado y pulverización

- ✓ La recolección se realizó en el distrito de Quillo, provincia Yungay, Departamento Ancash.(Anexo: 04,05,06,07)
- ✓ El secado se realizó en una estufa.
- ✓ El pulverizado se realizó en un molino.

#### 4.1.2 Extracción exhaustiva de Flor de Overo

- ✓ Se pesó 0.5091 g la muestra de flor seca pulverizada. (Anexo: 09 y10)
- ✓ Luego de haber pesado la muestra procedemos a agregar 10 ml de Metanol (CH<sub>3</sub>OH) 80% + 0,1% de Ácido Fórmico (CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), el cual es el solvente necesario para lograr un buen resultado, se procede a llenar a un tubo de ensayo con tapa rosca o también llamado tubo Falcón.

- ✓ Después de ello cubrimos los tubos con papel aluminio, esto se debe a que hay polifenoles sensibles a la luz, y la exposición a ello podría producir una alteración en los resultados.
- ✓ Los tubos previamente cubiertos lo llevamos a un agitador magnético por 30 minutos a 800 revoluciones por minuto (rpm), en el cual esta introducido un magneto lo cual va a facilitar la mezcla.
- ✓ Al terminar la agitación, retiramos el magneto y pesamos los tubos para así lograr un equilibrio de las muestras.

Después de ello llevamos el tubo a una centrifuga durante 5 minutos a 6000 rpm, culminado el tiempo retiramos y se extrae el sobrenadante y lo colocamos a una fiola de 50 ml, y así volvemos a repetir este procedimiento con los demás tubos exactamente 4 extracciones, para culminar este procedimiento aforamos la fiola con Metanol 80% + 0.1% de Ácido Fórmico. (25)

## 4.1.3 DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES EN Cordia lutea Lam (Flor De Overo)

- ✓ Seleccionamos la cantidad de fiolas a utilizar, el cual constó de 10 fiolas, dentro de ellas el 1ro era el blanco, a partir del 2do al 7mo fueron los estándares (0.5, 1, 2.5, 5, 7.5. 10 ppm) respectivamente, y las 3 últimas fiolas son en las cuales se trabajaron las muestras de Flor de Overo.
- ✓ Para ello a todas las fiolas agregamos 2.5 ml de agua tipo 2.

- ✓ Después de ello agregamos catequina a las 7 fiolas, dentro de ellas están incluidos el blanco y los estándares, y también se le agregó a las muestras un volumen 100 microlitros.
- ✓ Luego agregamos 500 microlitros (μL) del reactivo Follin Ciocalteu, para lograr un resultado óptimo es necesario llevarlo a oscuridad durante 5 minutos.
- ✓ Transcurrido el tiempo determinado observamos el cambio de color en cada uno de las Fiolas.
- ✓ Luego de ello se agregó 2 ml de Carbonato de Sodio al 10%, después de ello aforamos con agua tipo 2, y llevamos a oscuridad durante 90 minutos.
- ✓ Transcurrido el tiempo observamos el cambio de color y lo llevamos al espectrofotómetro para medir la absorbancia a una longitud de onda de 700 nanómetros (nm). (25)

#### 4.1.4 DETERMINACION DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE de Cordia lutea Lam

#### PREPARADO DE DPPH CON CONCENTRACION DE 0.06 miliMol (mM)

Se necesita 2.3mg de polvo de DPPH convertimos a gramos y se obtiene 0.023 gr y aforamos con metanol en la fiola de 100ml, para tenerlo 0.06 mM

#### PREPARACION DE TROLOX (ESTANDAR)

#### 1. preparación solución madre concentración 20mM

Se pesa 0.005 gr y lo diluimos en 1 ml de metanol.

Estándar N°.1

 $0.05 \text{ mM} \rightarrow 100 \mu\text{L} \text{ de } 0.1 \text{ mL} + 100 \mu\text{L} \text{ metanol}$ 

Estándar N°.2

0.1 mM

Estándar N°.3

 $0.2 \text{ mM} \rightarrow 250 \mu\text{L} \text{ del } 0.4 \text{ mM} + 250 \mu\text{L} \text{ de metanol}$ 

Estándar N°.4

 $0.4 \text{ mM} \rightarrow 200 \mu\text{L} \text{ del } 0.8 \text{ mM} + 250 \mu\text{L} \text{ de metanol}$ 

Estándar N°.5

0.8 mM→ 40 L de solución madre de 20 mM + 960 µL de metanol

De las Fiolas de 50 ml con las muestras se extrae en una cubeta de poliestireno y se le

agrega 1450 µl de DPPH a 0.06 mM y se lleva al espectrofotómetro a una longitud de

onda de 515 nm para obtener la absorbancia del tiempo cero. Se agregó 50µL del extracto

de flores y llevamos a oscuridad por un tiempo de 15 minutos, para que se dé la reacción

último se lleva al espectrofotómetro para la medición de su absorbancia,

realizándose por triplicado así mismo se realizó la curva de calibración utilizando los

estándares de trólox y las absorbancias a los 15 minutos de su reacción con DPPH. (25)

4.2. Población y muestra.

**Población vegetal:** Conjunto de flores de *Cordia lutea Lam*, que se obtuvieron de una

zona del Departamento de Ancash, Provincia de Yungay, del Distrito de Quillo. (Anexo

9)

**Muestra:** 100g de flor seca de *Cordia lutea Lam* 

20

### 4.3. Definición y operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
Contenido de polifenoles en extracto de Flor de Cordia lutea Lam.	Los compuestos polifenólicos y fenólicos, se les considera como antioxidantes, su estructura principal es la flavona, las cuales tienen la capacidad de reducir la permeabilidad o fragilidad capilar.	Se trabajó con el reactivo Follin Ciocalteu según valores de absorbancia medida en el espectrofotómetro UV/VIS.	mg catequina. Eq/g de flor seca
Actividad  antioxidante de la  flor de Cordia lutea  Lam.	Los antioxidantes son sustancias que se encuentran en menor concentración que la del sustrato que se oxida, tienen la capacidad de prevenir y retardar el proceso de oxidación, los sustratos que se oxidan son en su mayoría moléculas inorgánicas e orgánicas que están presentes en todas las células vivas como son hidratos de carbono, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.	Se realizó a través del método de DPPH según capacidad de secuestro y/o inhibición de radicales libres de acuerdo a valores de absorbancia medida en el espectrofotómetro UV/VIS.	mM trólox. Eq/g de flor seca

#### 4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se utilizó la observación directa, medición y registro de las reacciones de coloración y otras características que se observaron en la medición de las concentraciones totales de polifenoles y actividad antioxidante según técnicas espectofotométricas. Los datos obtenidos fueron registrados en fichas de recolección de datos.

#### 4.5. Plan de análisis.

Los datos se procesaron mediante en una matriz elaborada en el programa Excel se obtuvieron los datos de la media y desviación estándar.

#### 4.6. Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS:	HIPOTESIS	VARIABLE	TIPO DE INVESTIGACI ÓN	METODOLOGIA
Actividad antioxidante y contenido de polifenoles en flor de Cordia lutea Lam (Flor De Overo)	¿Cuál es la actividad antioxidante y contenido de polifenoles en flor de <i>Cordia lutea Lam</i> (Flor de Overo)?	Objetivo general:  -Determinar la actividad antioxidante y contenido de polifenoles en flor de Cordia lutea Lam (Flor de Overo).  Objetivos específicos:  -Determinar el contenido de Polifenoles equivalente a mg catequina/g de flor seca de Cordia lutea Lam (Flor de Overo) mediante el método de Folin-Ciocalteu.  - Determinar la actividad antioxidante equivalente a mM trólox /g de flor seca de Cordia lutea Lam (Flor de Overo) mediante el método DPPH.	informe tiene una		Estudio de tipo descriptivo.	Diseño de Investigación: Determinación de la actividad antioxidante de la flor de Cordia lutea Lam, según el método de DPPHDeterminación de contenido de polifenoles totales en flor de Cordia lutea Lam, según el método de Follin-Ciocalteu.

#### 4.7. Principios éticos

Se promovió la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso de *Cordia lutea Lam*, no solo para preservar su legado cultural, sino también para registrar información relevante y demostrar científicamente sus efectos terapéuticos que servirán como nuevas fuentes de medicamentos y otros beneficios para la humanidad. La finalidad es contribuir con la protección de la biodiversidad, puesto que es un bien común.

#### V. RESULTADOS

#### **5.1 Resultados**

*TABLA 01.* Contenido de Polifenoles totales expresados en miligramos de catequina equivalente por gramo de flor seca de *Cordia lutea Lam* 

Flor de Overo (FO)	Contenido mg catequina Equivalente /g de		
Cordia lutea Lam	flor seca		
FO1	52.123		
FO2	49.082		
FO3	51.190		
100	31.190		
Promedio	50.80		
Desviación Estándar	±1.5582		

*TABLA 02.* Actividad antioxidante expresada en mM de trólox equivalente por gramo de flor seca de *Cordia lutea Lam*.

Milimol de trolox Equivalente/g flor seca
153.55
135.61
160.84
150.00
±12.99

#### 5.2. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los polifenoles son compuestos químicos biosintetizados por las plantas, los cuales tienen uno o varios grupos hidroxilos, que están unidos a uno o varios anillos bencénicos. Los polifenoles en el proceso de absorción presentan varios cambios, ya que estos compuestos tienen que conjugarse en las células presentes en el intestino, luego de ello ocurren procesos de sulfatación y glucoronidación que se da en el hígado y por ultimo pasa por un proceso de metilación. Lo que determina la absorción de los polifenoles no depende de la concentración sino depende de su estructura química. (10)

Los resultados obtenidos que se encuentran en la Tabla 01 muestran que las flores de *Cordia lutea Lam* contienen 50.80± 1.5582 mg de catequina Equivalente/g de Flor seca. La determinación del contenido de Polifenoles en las flores de *Cordia lutea Lam*, se realizó mediante el método de Folin Ciocalteu, previo a este análisis se realizó la extracción exhaustiva, a partir del cual se empleó este método, que se aprecia en el Anexo 02 en donde se muestra la curva de calibración en relación a la absorbancia y concentración de catequina dando un coeficiente de 0.9996mg de catequina Equivalente/g de flor seca de *Cordia lutea Lam* lo cual indica una linealidad optima en cuanto a la relación de ambos valores.

Otro estudio realizado en hojas de *Cordia lutea Lam*, en el que se trabajó con ratas que fueron expuestas a tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>). En ello se trabajó con 4 grupos, el grupo I (blanco), grupo II (control), siendo los más significativos dos grupos problemas, al grupo III (problema I) se le administro una cantidad de 10mg/kg de flavonoides totales, mostrando aun niveles altos de la enzima Alanina Aminotransferasa (ALT) y bilirrubinas indirectas (BI), bilirrubinas directas (BD), bilirrubinas totales (BT),

referente a los valores normales. Mientras que al grupo IV (problema II) se le administro una cantidad de 20mg/kg de flavonoides totales, mostrando valores similares a los normales. Los flavonoides totales de las hojas de *Cordia lutea Lam* mostraron un efecto hepatoprotector.

Los ALT se encuentran en unas células llamadas hepatocitos, que se localizan en el citoplasma el incremento de los ALT se debe a una lesión o una muerte de los hepatocitos, ocasionada por el estrés oxidativo. El CCl<sub>4</sub> produce inflamación, debido a ello los niveles de bilirrubina se elevan. Los flavonoides demostraron un efecto antioxidante y hepatoprotector ya que atrapan radicales libres como, el hidroxilo ( – OH), CCl<sub>3</sub>, monóxido de nitrógeno (NO), éster (COO). El efecto hepatoprotector se debe a que disminuye la peroxidación lipídica hepática. (12)

En cuanto a la determinación de la actividad antioxidante de Flores de *Cordia lutea Lam* se realizó por el método de DPPH, para ello de igual manera se tuvo que realizar la extracción exhaustiva de las Flores de la planta, el cual se pude observar en el Anexo 03 en donde se muestra la curva de calibración que indica la relación de Trólox Equivalente y el porcentaje de inhibición, dando un coeficiente de 0.9996 mM Trólox Equivalente/g de flor seca de *Cordia lutea Lam* lo cual indica una linealidad optima en cuanto a la relación de ambos valores, los resultados obtenidos que se encuentran en la Tabla 02 muestran que las flores de *Cordia lutea Lam* contienen 150 ± 12.99 mg con respecto al Trólox Equivalente/g de flor seca.

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos depende del grado de polimerización de estos, ya que si presentan en su estructura una mayor cantidad de grupos hidroxilos, mostraran una alta capacidad antioxidante in vitro. En la estructura de los flavonoides si sus grupos hidroxilos se encuentran en posiciones 2, 3, 4, confiere

una estabilidad más alta, logrando la deslocalización de sus electrones en sus enlaces dobles de su anillo benceno.

Cuando hay sustituyentes en los anillos, se da lugar a la donación de electrones lo cual debilita los enlaces O-H lo cual permite incrementar la capacidad antioxidante de los grupos fenólicos. (21)

Un estudio realizado en la familia de las boraginaceae, en las flores de *Wigandia urens var Caracasana*, que se llevó a cabo mediante el método de DPPH, para evaluar la capacidad antioxidante en la cual el peso de la muestra fue de 100gr, mientras que el peso de la alícuota fue de 1.006 gr, se reconstituyo con un volumen de 10mL, con un factor de disolución de 1:5, mostrando una capacidad antioxidante de 1.8178±0.4021 /mg de extracto seco. (11)

La capacidad antioxidante que presentan los polifenoles se debe a la desustitución en su anillo aromático en posiciones orto y para, lo cual aumenta la estabilidad en su resonancia dando lugar a la aparición de p-quinonas y o-quinonas. El ácido rosmarínico en su estructura tiene 4 grupos hidroxilos que están cambiados en posición orto en cuanto a los anillos bencénicos, ello responsable de conferirle una capacidad antioxidante alta, aun mayor a la de un antioxidante natural  $\alpha$ -tocoferol. En estudios experimentales in vitro e in vivo, el ácido rosmarínico es buen antioxidante sobre el daño peroxidativo en las biomembranas.

Existe una relación en cuanto a la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles, lo cual es que si aumentamos la polaridad del solvente en el momento del fraccionamiento, aumenta tanto la capacidad antioxidante como el contenido de polifenoles. (24)

#### VI. CONCLUSIONES

- Las flores de *Cordia lutea Lam* (Flor de Overo) tienen actividad antioxidante y contenido de polifenoles.
- La actividad antioxidante de las flores de *Cordia lutea Lam* mediante el método de secuestro de radicales libres DPPH dieron como resultado  $150.00 \pm 12.99$  mM trólox Equivalente/g de flor seca.
- La cuantificación de polifenoles en flores de *Cordia lutea Lam* mediante el método de Follin Ciocalteu dieron como resultado  $50.80 \pm 1,56$  mg de catequina Equivalente/g de flor seca.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1. Organización Mundial de la Salud. Situación reglamentaria de los medicamentos herbarios [Internet]. Alemania: OMS. Publicado: 2000. [Citado: 24/04/2016]; pp: 1-60. Disponible en: http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/whozip58s/whozip58s.pdf
- 2. Organización Mundial De La Salud. Medicina Tradicional [Internet]. Publicado: 2002 [Citado: 15/05/2017]; pp: 1-6. Disponible en: http://apps.who.int/gb/archive/pdf\_files/EB111/seb1119.pdf
- 3. OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional [Internet]. Publicado: 2002. [Citado: 15/05/2017]. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/67314/1/WHO\_EDM\_TRM\_2002.1\_spa.pdf
- 4. OMS. Medicina Tradicional Necesidades Crecientes y Potencial [Internet]. Publicado: Ginebra;2002 [Citado: 15/05/2017]; pp:1-6. Disponible en: http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s2295s/s2295s.pdf
- 5. MAE. Especies Forestales [Internet]. Bosques Secos en Ecuador y su diversidad. Publicado: Ecuador; 2012. [Citado: 15/06/2017]; pp: Disponible en: http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/10/Bosques-Secos4.pdf
- 6. Castro S. Evaluacion Del Fruto De Muyuyo [Tesis]. Quito:Politecnica Selesiana: 2015. Disponibe en: https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/9029
- 7. Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev Cuba Med Mil [Internet]. 2002;1–8. Available from:

- 8. Coronado H M, Vega y León S, Gutiérrez T R, Vázquez F M, Radilla V C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Rev Chil Nutr [Internet]. 2015

  Jun [cited 2017 May 16];42(2):206–12. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0717-
- 75182015000200014&lng = en&nrm = iso&tlng = en
- 9. Zamora S JD. Antioxidantes: Micronutrientes En Lucha Por La Salud. Rev. Chil Nutr [Internet]. Publicado: Marzo 2007 [Citado: 15/05/2017];34(1):17–26. Disponible en:http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0717-75182007000100002&lng=en&nrm=iso&tlng=en
- 10. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Nutr Hosp organo Of la Soc Española Nutr Parenter y Enter [Internet]. 2012;27(1):76–89. Disponible en: http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/09\_revision\_08.pdf
- (11) Gaitán Fernández, I. Evaluación de la actividad antioxidante de cinco especies vegetales utilizadas popularmente para el tratamiento de afecciones de la memoria y los nervios [Tesis]. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia: 2009. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\_2882.pdf
- (12) García Méndez, M. Sandoval Briceño, J. Efecto de los flavonoides de hojas de *Cordia Lutea Lam* sobre hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono en *Rattus norvegicus var. Albinus*. [Bachiller]. Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2016. Disponible en:

http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1442/Garc%C3%ADa%20M%C 3%A9ndez%20Maritza%20Elizabeth%20II.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- 13. Agüero M, Segura C, Parra J. Análisis comparativo de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de cuatro marcas de tisanas de Hibiscus sabdariffa (Malvaceae) comercializadas en Costa Rica. Publicado: Costa Rica; Ene 2014. Revista Uniciencia Vol. 28, No. 1, [34-42]. [Citado: 26/04/2016] Disponible en: http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/uniciencia/article/view/5591
- (14) Barrón R. "Glicósidos de flavonoides y actividad antioxidante y citotóxica de Calia secundiflora (Ort) Yakovlev. [Tesis doctoral]. Chapingo, Estado de México: Universidad Autónoma Chapingo. 2011. [Citado: 26/04/2016] Págs. 1-101 Disponible en: http://www.chapingo.mx/horticultura/pdf/tesis/TESISDCH2011061606126316.pdf
- (15) González. R, Gallegos J. Rosales M, Rocha N, Cervantes V, Medina L. Actividad antioxidante de extractos de semilla de tres variedades de manzana (Malus domestica Borkh -Rosaceae-). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas [en linea] 2010, Nov 9; [Citado: 26/04/2016] Disponible en: http://www.redalyc.org/pdf/856/85615688004.pdf
- (16) Fong. O, Berenguer. C, De la Vega J, Wawoe. N, Puente E. Potencial antioxidante de un extracto acuoso de hojas del NIM (Azadirachta Indica A. Juss) (Original). Rev Cubana Plant Med Revista en Internet]. [Publicado: Jun. 2014]; [Citado: 26/04/2016]; vol.19 no.2; pp. 1-11. Disponible en: http://www.medigraphic.com/pdfs/revcubplamed/cpm-2014/cpm142i.pdf

- (17) Puertas M, Zuleta J, Rivera F. Capacidad antioxidante in vitro de comfrey (Symphytum officinale L.). Revista Cubana de Plantas Medicinales. (Original), [Publicado: 2012]; [Citado: 26/04/2016] pp: 30-36. Disponible en: http://www.medigraphic.com/pdfs/revcubplamed/cpm-2012/cpm121d.pdf
- (18) Barajas F, Fernández J, Galindo R. Diversidad y composición de la familia boraginaceae en el departamento de Santander (Colombia). Publicado: 2005. Caldasia 27(2) pp: 1-22. [Citado: 26/04/2016]. Disponible en: http://digital.csic.es/bitstream/10261/33317/1/2005\_FernandezAlonso\_Caldasia27(2).pd f
- (19) Aguirre Z. Ministerio del Ambiente. Especies forestales de los bosques secos del Ecuador. Guía dendrológica para su caracterización e identificación. Proyecto manejo forestal sostenible ante el cambio climático. Ecuador 2012. [Citado: 09/05/2016]. pp: 1-140 Disponible en: http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/10/Bosques-Secos4.pdf
- (20) Martos JR, Scarpati M, Rojas C, Delgado GE. Fenología de algunas especies que son alimento para la pava aliblanca Penélope albipennis Phenology of some species that are food for the White-winged Guan Penelope albipennis. PenéloPe albiPennis Rev. Perú biol. [Internet]. Publicado: Perú; 2009 [Citado: 01/06/2017];15(152):51–8. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/biologia/v15n2/pdf/a09v15n2.pdf
- (21) García F. Evaluación in vitro e in vivo de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. [Tesis doctoral]. Universidad de Murcia. Publicado: Europa 2005. [Citado:

09/05/2016] pp: 1-202. Disponible en: https://digitum.um.es/jspui/bitstream/10201/175/2/GarciaAlonso2de2.pdf

- (22) Tovar J. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH Y ABTS de 30 plantas recolectadas en la Ecoregión cafetera. Universidad tecnológica de Pereira. Publicado: Pereira 2013. [Citado: 23/05/2016] Págs. 1-150 Disponible en: http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/3636/1/54763T736.pdf
- (23) Kuskoski, E. Marta, Asuero Agustín, Troncoso Ana M, Mancini-Filho Jorge, Fett Roseane. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Cienc. Tecnol. Aliment. [Online]. Publicado: 2005. [Citado: 09/05/2016]; vol.25, n.4, pp.726-732. ISSN 1678-457X. Disponible en: http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf
- (24) Porta Knabenschuh, N. Evaluación del contenido fenólico y la capacidad antioxidante de los extractos provenientes de las hojas de *Cordia Sebestena*. [Tesis].República bolivariana de Venezuela universidad del Zulia. Facultad experimental de ciencias división de estudios para graduados maestría en química. 2016. Disponible en:http://tesis.luz.edu.ve/tde\_arquivos/102/TDE-2017-02-02T11:20:23Z-6947/Publico/porta\_knabenschuh\_nicole.pdf
- (25) Tedeschi P., Maietti A. et al. Un antico alimento funzionale: l'ortica. Nutraceutica [Internet]. 2018 [Citado: 01 abril 2018]. 1: 46-54. Disponible en: https://www.natural1.it/nutraceutica/item/2082-un-antico-alimento-funzionale-lortica

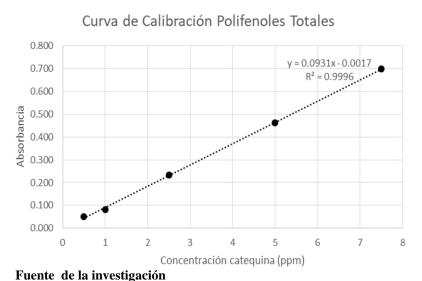
# **ANEXOS**

#### CERTIFICADO DE LA PLANTA

#### ANEXO N°.1

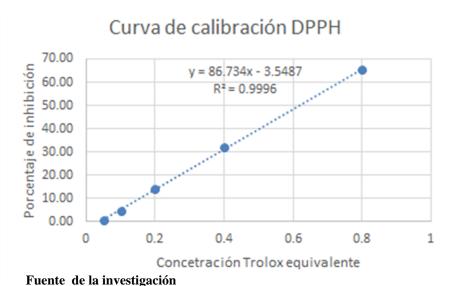


**ANEXO 02.** Curva de calibración de Polifenoles totales en relación a la concentración catequina y la absorbancia



i dente de la mivestigación

**ANEXO 03.** Curva de calibración de DPPH en relación a la concentración de trólox equivalente y el porcentaje de inhibición.



8

## RECOLECCIÓN DE LA PLANTA:

#### Cordia lutea Lam (Flor de Overo)

# ANEXO $N^{\circ}$ 4 ANEXO $N^{\circ}$ 5





ANEXO  $N^{\circ}$ . 6 ANEXO  $N^{\circ}$ .7





#### ANEXO N°.8

#### **SECADO**



### **ANEXO N°.9 Y 10**

### **MUESTRA TRITURADA**

Luego de triturarlo, lo llenamos en un frasco hermético de color ámbar.





# ANEXO N°.11 $\label{eq:locality} \textbf{UBICACIÓN DEL LUGAR DONDE SE RECOLECTÓ LA MUESTRA}$

