



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**VICERECTORADO DE INVESTIGACIÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y**  
**BIOQUÍMICA**

**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE**  
**POLIFENOLES TOTALES DEL EXTRACTO DEL**  
**FRUTO DE LA *Genipa americana* L “JAGUA”**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL**  
**GRADO DE BACHILLER EN FARMACIA Y**  
**BIOQUÍMICA**

**AUTOR(A):**

Annyel Lucero Juarez Aguilar

**ASESOR(A):**

Mgtr. Liz Elva Zevallos Escobar

CHIMBOTE-PERÚ  
2018

**“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE  
POLIFENOLES TOTALES DEL EXTRACTO DEL  
FRUTO DE LA *Genipa americana* L “JAGUA”**

**JURADO EVALUADOR DE LA INVESTIGACIÓN**

---

**Dr. Jorge Luis**

**Díaz Ortega**

**PRESIDENTE**

---

**Mgtr. Walter Teodoro**

**Ramírez Romero**

**MIEMBRO**

---

**Mgtr. Edison Vásquez**

**Corales**

**MIEMBRO**

---

**Mgtr. Liz Elva**

**Zevallos Escobar**

**ASESOR**

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecer a Dios, el ser todo poderoso y misericordioso por haberme dado la oportunidad de vivir ser el manantial de vida, por darme salud, por darme las fuerzas necesarias para continuar y no caer ante las dificultades que se presentan y luchar por conseguir mis objetivos, además de darme siempre su infinita bondad y amor.

A mi madre GRACIELA, quien me brindó su apoyo incondicional en todo momento para poder atravesar la adversidad de mi camino, el cansancio de las horas de estudio y sobre todo el esfuerzo dado día con día en la culminación de mi carrera profesional con éxito.

A mi tío PASCUAL, Por haberme brindado a través de su cariño la ayuda necesaria para salir adelante a pesar de las dificultades en el camino por entregarme siempre su apoyo moral, por el esfuerzo que hace siempre en el trabajo para solventar mis estudios y lograr de esta manera que cumpla mis sueños de ser una profesional por excelencia.

## DEDICATORIA

A mi madre GRACIELA, por haberme dado la vida y enseñarme a ser una persona de bien con valores y principios; que a pesar de no tener la solvencia necesaria esta ahí acompañándome siempre en cada situación que se me presenta para poder seguir adelante con mis estudios y no dejarme vencer por nada ni por nadie.

A mi tío PASCUAL, quiero dedicarle mi tesis de manera muy especial con mucho cariño por haberme brindado su apoyo incondicional todo este tiempo, desde el día en que nací siempre estuvo conmigo en cada momento a pesar de algunas problemas que tuve, nunca me dejo de apoyar y creer en mí, por todos aquellos consejos que hacían en mi querer seguir adelante para lograr todo lo que me proponga y culminar mi carrera profesional.

A mi compañero de toda la vida, quiero dedicarle mi tesis con mucho cariño por brindarme su apoyo, por alentarme siempre con su afecto incondicional, por dedicarme su tiempo con la humildad que le caracteriza, a pesar de las dificultades que pudiera tener, siempre tuvo las palabras correctas para no dejarme vencer y seguir adelante.

## RESUMEN

Los compuestos fenólicos se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas y representan potentes actividades biológicas como antioxidantes, beneficiosas en el cuidado de la salud humana. Con la neutralización de los radicales libres, estos antioxidantes, protegen a las moléculas de las células del daño oxidativo producido por especies reactivas del oxígeno (ROS). El objetivo fue determinar la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles totales del fruto de la *Genipa americana L* “JAGUA”. El desarrollo del estudio fue de tipo descriptivo con un nivel de investigación de enfoque cuantitativo. La recolección de la especie se realizó en Tocache, se realizaron extractos para cada muestra de fruta seca: extracción exhaustiva con metanol al 80%, infusión y decocción. Se desarrolló el modelo de Folin–Ciocalteu para cuantificar polifenoles totales, y la técnica del DPPH para evaluar la actividad antioxidante. Los resultados indican que existe actividad antioxidante en el extracto con metanol al 80%, infusión y decocción ( **$7.49 \pm 0.25$ ,  $10.10 \pm 1.71$  y  $15.22 \pm 0.44$ /mM trolox Eq./g de muestra seca respectivamente**). En el contenido de polifenoles el extracto metanólico, infusión y decocción muestran ( **$7.04 \pm 0.93$ ,  $3.97 \pm 0.18$  y  $1.62 \pm 0.44$ /mg de catequina eq/g de muestra seca, respectivamente**). Se concluye que los frutos de la *Genipa americana L* “JAGUA”, tienen actividad antioxidante y contenido de polifenoles totales.

**Palabras claves:** *Genipa americana L* “JAGUA”, Actividad antioxidante, Contenido de polifenoles, DPPH, Folin–Ciocalteu

## ABSTRACT

The phenolic compounds are widely distributed in plants and represent powerful biological activities as antioxidants, beneficial in the care of human health. With the neutralization of free radicals, these antioxidants protect the molecules of the cells from the oxidative damage produced by reactive oxygen species (ROS). The objective was to determine the antioxidant activity and the total polyphenol content of the *genipa americana* L "JAGUA". The development of the study was of a descriptive type with a research level of quantitative approach. The collection of the species was carried out in Tocache, extracts were made for each dry fruit sample: exhaustive extraction with 80% methanol, infusion and decoction. The Folin-Ciocalteu model was developed to quantify total polyphenols, and the DPPH technique to evaluate the antioxidant activity. The results indicate that there is antioxidant activity in the extract with 80% methanol, infusion and decoction ( $7.49 \pm 0.25$ ,  $10.10 \pm 1.71$  and  $15.22 \pm 0.44$  / mM trolox Eq./g dry sample respectively). In the content of polyphenols the methanolic extract, infusion and decoction show ( $7.04 \pm 0.93$ ,  $3.97 \pm 0.18$  and  $1.62 \pm 0.44$  / mg of catechin eq / g dry sample, respectively). It is concluded that the fruits of the *Genipa americana* L "JAGUA" have antioxidant activity and total polyphenol content.

Keywords: *Genipa americana* L "JAGUA", antioxidant activity, polyphenol content, DPPH, Folin-Ciocalteu

## INDICE

	Pág.
JURADO EVALUADOR DE TESIS.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
DEDICATORIA.....	v
EPRESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
INDICE DE GRÁFICOS Y TABLAS.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	6
2.1. Antecedentes.....	6
2.2. Bases teóricas.....	12
2.2.1. GENERALIDADES DE LA Genipa americana L “JAGUA”.....	12
2.2.1.1. Clasificación taxonómica.....	13
2.2.1.2. Características.....	13
2.2.1.3. Composición química.....	14
2.2.1.4. Área de distribución natural y de naturalización.....	15
2.2.1.5. Clima.....	16
2.2.1.6. Cultivo y cosecha.....	17
2.2.1.7. Reproducción sexual.....	17
2.2.1.8. Propiedades fisicoquímicas de genipósido y genipina.....	18
2.2.1.9. Propiedades y aplicaciones tradicionales.....	19
2.2.2. RADICALES LIBRES.....	20
2.2.2.1. Funciones de los radicales libres.....	22



2.2.2.2.	Principales fuentes de Radicales Libres.....	22
2.2.2.3.	Reacciones de los radicales libres.....	25
2.2.2.4.	Mecanismos generadores de Radicales Libres.....	26
2.2.3.	ESPECIES REACTIVAS DE OXIGENO.....	27
2.2.3.1.	Clasificación de las especies reactivas.....	27
2.2.3.2.	Efecto nocivo de las especies reactivas del oxígeno (ROS).....	32
2.2.4.	DAÑO O ESTRÉS OXIDATIVO.....	34
2.2.4.1	Envejecimiento y estrés oxidativo.....	35
2.2.4.2.	Relación estrés oxidativo y cáncer.....	36
2.2.4.3.	Enfermedades que se asocian al estrés oxidativo.....	37
2.2.5.	ANTIOXIDANTES.....	42
2.2.5.1.	Historia de los antioxidantes.....	42
2.2.5.2.	Definición de antioxidantes.....	43
2.2.5.3.	Actividad antioxidante.....	46
2.2.5.4.	Tipos de antioxidantes.....	47
2.2.5.5.	Clasificación de los antioxidantes.....	48
2.2.5.6.	Sistemas antioxidantes.....	49
2.2.5.7.	Defensa antioxidante.....	53
2.2.5.8.	Mecanismo de acción.....	53
2.2.6.	POLIFENOLES.....	54
2.2.6.1.	Estructura de los compuestos fenólicos.....	55
2.2.6.2.	Actividad biológica de los compuestos fenólicos.....	56
2.2.6.3.	Mecanismos de acción de los polifenoles.....	57
2.2.6.3.	Propiedades de los polifenoles a nivel cardiovascular.....	58

2.2.6.4. Biodisponibilidad de polifenoles en la dieta.....	59
2.2.7. FUNDAMENTOS DE MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN.....	60
2.2.7.1. Método de extracción.....	60
2.2.7.2. Técnica de espectrofotómetro.....	60
2.2.7.3. Medición de la actividad antioxidante.....	61
2.2.7.4. Métodos de evaluación de actividad antioxidante.....	62
2.2.7.5. Métodos de evaluación de polifenoles totales.....	63
III. HIPÓTESIS.....	63
IV. METODOLOGIA.....	64
4.1. Diseño de la investigación.....	64
4.2. Población y muestra.....	67
4.3. Definición y operacionalización de variables.....	68
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	69
4.5. Plan de análisis.....	70
4.6. Matriz de consistencia.....	70
4.7. Principios éticos.....	72
V. RESULTADOS.....	72
5.1. Resultados.....	72
5.2. Análisis de resultado.....	73
VI. CONCLUSION.....	78
VII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	78
ANEXOS.....	94

## INDICE DE FIGURAS, TABLAS Y GRAFICOS

<b>FIGURA 1:</b> Especie vegetal <i>Genipa americana</i> L “JAGUA”.....	13
<b>GRÁFICO 1:</b> Curva de calibración de polifenoles totales.....	94
<b>TABLA 1:</b> Contenido de polifenoles totales por gramo de los frutos secos de la <i>Genipa americana</i> L “JAGUA” .....	72
<b>GRÁFICO 2:</b> Curva de calibración de DPPH (2,2- difenil-1-picrilhidrazilo)...	94
<b>TABLA 2:</b> Capacidad antioxidante en la muestra de los frutos de la <i>Genipa americana</i> L “JAGUA” .....	72

## I. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos antiguos, la población ha recurrido a la naturaleza, principalmente a las plantas como una alternativa de las medicinas farmacéuticas, por sus propiedades farmacológicas para aliviar y curar sus necesidades primarias en el cuidado de la salud.<sup>(1)</sup> Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 80% de la población mundial hace uso de los remedios tradicionales, así mismo indican que los medicamentos herbarios están constituidos por frutos, hojas, semillas, tallos, madera, corteza, raíces y otras partes de plantas.<sup>(2)</sup>

En el Perú las plantas medicinales remota desde la antigüedad "los primeros naturalistas del mundo los indios, utilizaban a las plantas para curar diferentes enfermedades, así mismo en la economía doméstica, tintorería y construcciones". La sabiduría tradicional sobre la aplicación de plantas medicinales es de gran importancia, porque constituye la base a miles de investigaciones fitoquímicas y efectividad para determinar sustancias activas procedentes de plantas superiores. Este presenta más de 20 mil especies vegetales, el 8% del total de plantas encontradas en el mundo, siendo la mayor cantidad de las especies de la Amawña. Sin embargo menos de 1% ha sido estudiada desde un punto de vista fitoquímico y farmacológico.<sup>(3)</sup>

En los últimos años, se han incrementado las investigaciones científicas en la importancia de encontrar nuevos antioxidantes de plantas naturales que deben estar constituidos por mezclas compuestas por una gran diversidad molecular y

funcionalidad biológica para la prevención de enfermedades neurodegenerativas, cancerígenas, cardiovasculares, enfermedades crónicas como el Parkinson y Alzheimer, así como también inflamaciones y trastornos que fueron ocasionados por el envejecimiento celular, en las cuales está implicado el daño oxidativo, la acción de los radicales libres son bloqueadas por sustancias antioxidantes las cuales la son captadas en el organismo y son importantes en la modulación de detoxificación enzimática, estimulación del sistema inmune, reducción de la agregación plaquetaria y modulación del metabolismo hormona.<sup>(4,5)</sup>

Existen varias sustancias con cualidades antioxidantes obtenidas de fuentes naturales que se encuentran bajo estudio, uno de ellos son los flavonoides y los compuestos fenólicos, los cuales son metabolitos secundarios de muchas plantas, y representan papel fundamental en la variación de la actividad antioxidante. Los compuestos fenólicos son metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas y actúan como agentes protectores frente a patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa a condiciones de estrés, tales como infecciones, radiaciones UV, entre otros. Estos compuestos fenólicos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias que evidencian su rol protector sobre la salud humana, Debido a su actividad biológica como antioxidantes, antiinflamatoria, cicatrizante etc.<sup>(5)</sup>

Los antioxidantes naturales son encontrados en diversas partes de las plantas, como semillas, frutos, hojas, corteza y la raíz, en los productos microbianos de fermentación, así mismo los flavonoides también se encuentran distribuidos en

las plantas y representan potentes actividades biológicas como antioxidantes, antiinflamatorios, algunos estudios e investigaciones indican los beneficios en el cuidado de la salud humana, con la neutralización de los radicales libres.<sup>(6)</sup>

Los radicales libres no son talmente dañinos, ya que nuestro propio organismo los fabrica en cantidades moderadas para combatir contra bacterias y virus. Estos radicales son neutralizados fácilmente por nuestro propio sistema antioxidante.<sup>(7)</sup>

Los antioxidantes, protegen a las moléculas de las células del daño oxidativo producido por especies reactivas del oxígeno, sustancias prooxidantes como el radical hidroxilo, el anión superóxido y el peróxido de hidrogeno. Los antioxidantes que están presentes en las especies vegetales pueden servir como tratamiento alternativo para la disminución de las enfermedades de síndromes neurodegenerativas, al disminuir la cantidad de radicales libres lo que retarda la formación de la placa amiloide y por ende la pérdida de la memoria.<sup>(8)</sup>

La especie vegetal *Genipa americana L* “JAGUA” conocida comúnmente como jagua se encuentra distribuida en la amazonia, presentan muchas propiedades medicinales que destacan en ellas extracción dental, hemorragia, hidropesía (ascitis), hongos de la piel, ictericia, inflamación vaginal, Afrodisíaco, antiabortivo, antiséptico, cicatrizante, antioxidante, digestivo, diurético, laxante, anemia, asma, bronquitis, calvicie, cáncer uterino, caspa, diarrea, enteritis crónica, reumatismo, sarampión, tos, Sus frutos tanto verdes como maduros contienen proteínas: 7,3 g%, fósforo 0,16 g%, calcio 0,30 g% y fibra 32 mg% y

grasas 4,2 g%. Algunos son empleados en jarabes, dulces y otros preparados. Los frutos verdes y las hojas son empleados para teñir el cuerpo, Su ácido genopocídico y su metabolito secundario tánico, presentes en los frutos verdes, hojas y corteza, son favorables en dolencias digestivas, como diarreas que se deben aprovechar para el beneficio de la salud.<sup>(9)</sup>

Es importante entender que la medicina natural ha aportado los conocimientos científicos durante décadas, puesto que las sustancias de los metabolitos que poseen las plantas son usadas, estudiadas para la curación y tratamiento de muchas enfermedades.<sup>(10)</sup> Hoy en día existen estrategias terapéuticas que consisten en inhibir la acción de estas especies reactivas, pero los costos y las reacciones secundarias (patologías digestivas) de los medicamentos utilizados limitan el uso de la terapia. Debido a estos efectos secundarios que son difíciles de explicar, la medicina tradicional continúa siendo una opción importante para poder evitar estos efectos dañinos en la salud humana. Se quiere encontrar específicamente varios efectos preventivos para las distintas enfermedades como la prevención de cáncer, las enfermedades coronarias, la degeneración neurológica y el envejecimiento.<sup>(11)</sup>

El único fin de esta investigación es que a través de una evaluación de la actividad antioxidante de la *Genipa americana* L “JAGUA”, la población peruana valore y aproveche mucho más la reserva de los recursos naturales de la amazonia peruana para los beneficios y tratamientos en el cuidado de la salud.<sup>(12)</sup>

**Se propone como objetivo general:**

- Determinar la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles totales del extracto del fruto de la *Genipa americana* L “JAGUA”.

**Así mismo como objetivos específicos:**

1. Determinar la actividad antioxidante del extracto del fruto de la *Genipa americana* L “JAGUA” expresado en mM de Trolox eq./g muestra seca.
2. Determinar el contenido de polifenoles totales del extracto del fruto de la *Genipa americana* L “JAGUA” expresado en mg de catequina eq./g muestra seca.



## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes:

#### ❖ Investigación a nivel nacional:

Según Mango E. Aldaba J.<sup>(6)</sup> En el año 2018 en la universidad Inca Garcilaso de la vega de Lima-Perú, plantearon una investigación donde se demostró los tipos de polifenoles presentes en las hojas y su actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de la *Genipa americana L* (jagua), mediante método difusión agar. Se realizó cultivos de bacterias Gram positivas y Gram negativas, como muestra el extracto de hojas. Se dividió en 3 tratamientos y 3 repeticiones. El T1 fue el tratamiento control, T2 y T3 fueron soluciones del extracto al 50% y 100% respectivamente, se incubaron por 24 horas y luego se realizó lectura de placas, donde no se observaron halos de inhibición. Pero en sus hojas se encontró varios tipos de flavonas, compuestos polifenólicos que tendrían actividad biológica como antiinflamatoria, cicatrizante y antioxidante.

En el año 2014 en la ciudad de Huánuco-Perú Crisostomo *et al.*<sup>(13)</sup> hicieron un estudio para determinar la actividad antibacteriana del fruto de jagua (*Genipa americana L*) frente a *Staphylococcus sp.* Se recolectó una cepa de la mucosa oral para aislarla y hacer un antibiograma, con el

extracto del fruto de la jagua, Se realizó 7 tratamientos y 8 repeticiones. En el T1 fue tratamiento de control, en el T2, T3, T4 soluciones del extracto de jagua en cc de 50%, 75% y 100%; en el T5 se usó la pulpa y en el T6, T7 se usaron discos de sensibilidad antibacteriana de eritromicina y amoxicilina + ácido clavulánico. Se obtuvo inhibición más alta en los T3 (75%) y T4 (100%) con un promedio de 17.1 mm y 22.6 mm, similares a la actividad antibacteriana de la amoxicilina + ácido clavulánico. Por ello se afirma que la fruta de jagua tiene actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus sp.*

El autor Aguilar.<sup>(14)</sup> en su investigación durante el año 2013 en Lima-Perú evaluó el análisis químico proximal, contenido de fenoles totales, actividad antioxidante, actividad inhibitoria de enzima elastasa de frutos de *Pouteria caimito* “Caimito” y *Genipa americana L* “Huito” y sus compuestos volátiles por método de GC/MS. El “Huito y caimito” tienen niveles de carbohidratos (85.50 y 91.11%). El extracto de “Huito” presenta alto contenido de fenoles ( $219.40 \pm 1.49$ ), y “Caimito” ( $56.08 \pm 0.15$  mg AG/g). En la actividad antioxidante frente a radicales ( $73.41 \pm 6.10$  y  $33.44 \pm 1.61$   $\mu$ mol de Trolox/g). Ambos tienen actividad antielastasa en concentración de 5mg/mL (41.72% y 23.14%). El “huito” tiene 35 compuestos volátiles, el ácido octanoico (62.32%) y estireno (15.5%), Por su alto contenido de fenoles el “Huito” podría utilizarse como antioxidante natural.

Un estudio presentado por los autores Sotero *et al.*<sup>(8)</sup> en el año 2011 en la ciudad de Iquitos-Perú, con el propósito de identificar la actividad antioxidante de los frutos originarios de la cuenca de amazonia: anona, castaña, chope, huasaí, huito y uvilla. Mediante el método de secuestro de radicales libres del DPPH. Así mismo, se evaluó la concentración de compuestos fenólicos por espectrofotometría y ácido ascórbico por cromatografía de HPLC. La mayor actividad antioxidante se da en las cáscaras del chopé con IC de 63.02 ug/mL. En cuanto a compuestos polifenólicos, la más alta concentración fue de la cáscara y pulpa de huito (*Genipa americana L*) 137.15 y 97.78 mg/100g. El ácido ascórbico están presentes en altas concentraciones en la pulpa de anona con 4.28 mg/100g y semilla de castaña con 3.33 mg/100g.

La investigación de Mesones G. Donayre L.<sup>(15)</sup> tiene como finalidad demostrar el efecto antimicrobiano de distintas especies *Bixa orellana* "achiote", *Genipa americana L* "huito" y *pistia stratiotes* "huama" sobre agentes que producen infecciones dérmicas y vaginales. En el año 2007 en Iquitos-Perú, los autores prepararon 100 mL de agar Müller-Hinton y Sabouraud al cual se agregó 0.1 mL de una suspensión microbiana ( $3 \times 10^8$  céls/ml.), para uso en las pruebas de placas mediante el método de los excavados. En cada excavado se agregó 0.1 ml de cada concentración del extracto y se incubó de 18 - 24 horas por 37°C. En estas pruebas se identificó que el extracto de la *Genipa americana L*, tiene mayor efecto antimicrobiano frente a todos los microorganismos

de prueba, pero sólo *Eschenchia coli* y *Staphylococcus aureus* presentaron halo de inhibición.

Durante el año 2006 Daza.<sup>(16)</sup> llevo a cabo un estudio en la localidad de Tingo María-Perú, de la especie vegetal “Capirona” (rubiaceae), familia de mi fruto en estudio *Genipa americana L.* Lo cual se determinó los polifenoles totales por método de Price y Butler en hojas, corteza, raíz y ritidoma de *Calycophyllum spruceanum* "Capirona". Se diseñó un bloque completo al Azar y prueba de Tukey con  $p < 0,05$ . El extracto seco de la hoja recolectada a las 07:00a.m, tiene alto contenido polifenoles  $2,0814 \pm 0,2816$  mg AGE/g en extracción con acetona/agua y  $0,3185 \pm 0,0176$  mg AGE/g con extracto de agua a 45°C. La mayor actividad antioxidante se identificó en extracto de acetona/agua, de hoja recolectada a las 05:00p.m, Con un  $IC_{50}$  ( $37,148 \pm 5,56$ ug/mL) y el extracto de agua a 45°C, corteza recogida a las 07:00a.m. ( $52,352 \pm 2,669$ ug/mL), frente al radical DPPH.

Los autores Giraldo *et al.*<sup>(11)</sup> en una investigación realizada en el instituto de ciencias farmacéuticas y recursos naturales de Lima-Perú en el año 2003, evaluaron la actividad Antinitrosativa y antiinflamatoria de los flavonoides en hojas de *Uncaria tomentosa* (Uña de gato), perteneciente a la familia rubiaceae de la *Genipa americana L.* El aislamiento se realizó en cromatografía, cuantificada en espectrofotómetro con un modelo experimental de inflamación

intestinal crónica y la acción antinitrosativa *in vitro* con el reactivo de Griess. En la actividad antiinflamatoria los flavonoides administrados 2 veces diarios tuvo menor % en reducción de peso del que no recibió, en diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). Se obtuvo 1.33% de flavonoides totales en hojas, disminuyen la inflamación intestinal, con mayor integridad de mucosa y poca acción antinitrosativa.

❖ **Investigación a nivel internacional:**

En Ecuador en el año 2018 el autor Rivadeneira.<sup>(17)</sup> presentó en su estudio la cuantificación de compuestos fenólicos presentes en los frutos de la Sua (*Genipa americana L*) frente a *Staphylococcus*, utilizó los reactivos etanol, metanol y el método folin-ciocalteu (FC) expresados como patrón mg de ácido gálico equivalente. En este proceso se utilizó la cascara y frutos, en la cuantificación de datos se obtuvo que el mejor solvente para la extracción de compuestos fenólicos en etanol adquirió una media de 175 y 141 ppm, con el metanol los valores fueron en menor intensidad de 70 a 65 ppm para extractos de pulpa y cáscara con una absorbancia a 750nm. La capacidad inhibitoria se realizó en 4 diluciones (1:10, 1:50, 1:100, 1:1000), a 35°C el SPE tiene alto control positivo con hipoclorito de sodio, mientras que a 37°C se encontraron dos que tuvieron mayor halo de inhibición.

En la ciudad de Mérida-Venezuela el autor Velasquez.<sup>(18)</sup> en el año 2014 mediante el objetivo de determinar la obtención y caracterización del entrecruzante natural genipina a partir del fruto *Genipa americana L.* La caracterización fisicoquímica, realizada por punto de fusión, polarimetría, difracción de rayos-X (polvo), espectroscopia UV-vis, FT-IR y <sup>1</sup>H-rmn, <sup>13</sup>C-rmn, COSY, HMQC, HMBC y su derivatización. En el preparado del mono-3,5-dinitrobenzoato de genipina en hidrogeles del biopolímero quitosano (agente entrecruzante). En medio acuoso a valores de pH (3,94 y 5,99) en comparación de la capacidad hinchamiento en medios distintos (ácido acético acuoso y agua). En medio acuoso el hinchamiento de hidrogeles tiene grado de entrecruzamiento más bajos sin importar el PH y en ácido disminuye a medida que el grado de entrecruzamiento aumenta.

Matzner.<sup>(19)</sup> En el año 2014 en Valdivia-chile, procedió a demostrar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de corteza del tallo de *Uncaria tomentosa* en ratas a inflamación subplantar con carragenina de especie rubiaceae, familia de mi fruto en proceso de investigación *Genipa americana L.* Se utilizaron 30 machos (cepa Sprague Dawley) de 220 y 270g, distribuidos en 3: Serie 1 (Testigo con NaCl 0.9%), Serie 2 (5 mg/kg de indometaccina.), Serie 3 (32 mg/kg extracto de corteza del tallo). En 0.5 mL/100g de peso, se indujo inflamación en pata derecha con 0.1 mL de carragenina- $\lambda$  al 1% en solución de (NaCl 0.9%) 1/2h después, medida con pletismógrafo. Se hizo 9 mediciones, la 1 fue

previo a la carragenina, las otras luego de 1,2,3,4,5,6,7 y 8h. Se concluye que en extracto etanólico la corteza del tallo tiene efecto antiinflamatorio significativo ( $p \leq 0.05$ ), en 8h.

## **2.2. Bases teóricas de la investigación:**

### **2.2.1. GENERALIDADES DE LA *Genipa americana* L “JAGUA”**

El árbol silvestre de *Genipa americana* L “JAGUA” es una especie del genero Genipa, se logra expandir desde las cuencas Amazónicas, logrando así su distribución mediante los Trópicos Americanos por las comunidades indígenas en tiempos prehistóricos. Crece en elevaciones que van desde el nivel del mar hasta los 1200 m, y una temperatura media anual de 18 a 30 °C.<sup>(6)</sup>

Se le conoce también por los nombres comunes de jagua (en español), genipa (en inglés), bois de fer (en francés) y genipapo (en portugués), de tamaño mediano con una corteza lisa y de color claro, un tronco recto, ramas en verticilos, hojas de color verde oscuro y fruta con una fragancia y un sabor parecidos a los de la pera (*Pyrus communis* L.). La especie presenta una distribución natural extensa, lo que se atribuye en parte a su cultivo en tiempos pre-colombinos. Su madera tiene muchos usos, es de color pardo amarillento claro, de textura pareja y pesada.<sup>(20)</sup>

### 2.2.1.1. Clasificación taxonómica:

Según el Director del herbarium

**Superreino:** Eukaryota

**Reino:** Plantae

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida

**Orden:** Gentianales

**Familia:** Rubiaceae

**Subfamilia:** Ixoroideae

**Tribu:** Gardenieae

**Género:** *Genipa*

**Especie:** *Genipa Americana L.*



**Figura 1** fruto del árbol de la *Genipa americana L.*

### 2.2.1.2. Características:

La *Genipa americana* L “JAGUA” es un árbol caducifolio mediano, de tamaño pequeño a mediano, de 8 a 20 m de altura, se encuentran especímenes de hasta 30 metros. El diámetro del tronco es de 30 a 80 cm tiene una corteza gruesa, suave, copa densa y las ramas más bajas crecen en forma horizontal, con 10 a 35 hojas en los extremos.<sup>(21)</sup>



Se caracteriza por su tronco cilíndrico, libre de ramas por muchos, surgen del tronco en círculos a distintos niveles; su corteza es lisa, grisácea, con manchas blancas, Sus hojas son concentradas en el ápice de las ramas, oblongo lanceoladas, glabras en ambas caras; las estípulas son interpeciolares triangulares grises con el ápice muy agudo. La flor presenta cáliz tubular verde y su corola de color blanco a amarillo, de tacto veloso, ligeramente perfumada. El fruto es una baya subglobosa a ovoide, de 10-12 cm de largo por 7 a 9 cm de diámetro, pesando entre 200 y 400g, su jugo es de color amarillo que se oscurece hasta tornarse azul oscuro. Su cáscara es de color pardo amarillento. Pericarpio pardo amarillo, esponjoso, cerca de 1,5 cm de espesor; pulpa jugosa, agridulce, astringente, con numerosas semillas achatadas color crema; el pericarpio y la pulpa son aromáticos.<sup>(22)</sup>

### **2.2.1.3. Composición química:**

Algunas de las investigaciones indican que los compuestos bioquímicos de *Genipa americana* L “JAGUA” son:

- **Lípidos:** ácidos grasos y fitoesteroides como o ergosta- 4, 6,22-trieno, 4,4-dimetilcolesta-6, 22,24-trieno,  $\beta$ -sitosterol,

tremulona, campesterol y estigmasterol.

- **Compuestos fenólicos:** 6,7-dimetóxi-cumarina, taninos.
- **Iridoïdes:** Genipósido, Ácido genípico, Ácido genipínico, tarenosídeo, gardenosídeo, gardendiol, shanzhisídeo, éster acetílico de ácido desacetilasperulosídico, genopocídico, entre otros.
- **Monoterpenoides:** genipacetal, genipaol
- **Compuestos volátiles:** 2,4-octadieno, Estireno, Heptadienal, 2,3-dimetil-2-ciclopenteno-1-ona, Ácido hexanóico, Nonanol, Octanoato de metilo, Metilbenzaldeído, Ácido octanóico, Ácido 2-metilbutanóico.
- **Alcaloides:** cafeína.
- **Ácidos y alcoholes orgánicos:** manitol, ácido tartárico.
- **Otros:** hidantoína.<sup>(21,22)</sup>

#### **2.2.1.4. Área de distribución natural y de naturalización:**

El árbol de la genipa americana se originó en la Cuenca Amazónica y fue extendido a través de los Trópicos Americanos,

por los humanos en tiempos pre-históricos. Los límites originales de su distribución se desconocen. Hoy en día, los árboles de jagua crecen naturalmente a lo largo de las costas en México un poco al norte del Istmo de Tehuantepec y del istmo a través de la América Central y en el norte de América del Sur hasta Paraguay y al norte de Argentina.<sup>(21)</sup>

#### **2.2.1.5. Clima:**

El árbol de jagua está limitado a hábitats húmedos y cálidos. La distribución natural y de naturalización de la especie se encuentra por lo general restringida a áreas que reciben de 1200 a 4000 mm de precipitación anual y tienen una temperatura anual promedio de entre 18 y 28 °C. A pesar de que el árbol de jagua se comporta mejor en un hábitat húmedo, en algunas partes de la repartición natural tienen estaciones secas hasta 5 meses de duración, durante pierde sus hojas, esto le ayuda a evitar el estrés de la sequía. El crecer en hábitats ribereños permite a la especie el existir en un hábitat un poco más seco de lo que naturalmente podría soportar. No se localiza en climas helados en su hábitat nativo y se ve deteriorado a temperatura de grados elevados del punto de congelación.<sup>(20)</sup>

#### **2.2.1.6. Cultivo y cosecha:**

El cultivo de *Genipa americana* L “JAGUA” puede realizarse con fines de aprovechamiento tanto de sus frutos como de la madera, es recomendado añadir cultivos temporales de algodón o yuca entre los árboles jóvenes para cuidar que no les empañe el sol. La cosecha de las frutas es posible cerca de los 6 años de edad de la especie, se puede recolectar entre 400 a 600 frutos por cosecha y se lo realiza en bolsas de ventilación. Para la extracción del colorante se macera la pulpa de la fruta en agua.<sup>(21)</sup>

#### **2.2.1.7. Reproducción sexual:**

La reproducción por semilla es el método más usado, la viabilidad de la semilla es alargada naturalmente por 90 días, no tienen comportamiento definido, cuando son sembradas rápidamente después de su extracción y proceso (su humedad está en 40%), presenta un alto poder germinativo, siendo la germinación rápida y uniforme. Los frutos contienen 296 semillas, pequeñas, con un peso de 75 g por 1000 semillas.<sup>(22)</sup>

#### **2.2.1.8. Propiedades fisicoquímicas de genipósido y genipina:**

El Genipósido presente en la planta de la *Genipa americana L* “JAGUA” es un iridoide glicosilado que mediante una hidrólisis con  $\beta$ -glucosidasa se descompone en Genipina y D-glucosa. La estructura de la genipina fue descubierta en 1960 por Djerassi a partir de la fruta madura de *Genipa americana*, esta sustancia es responsable de la coloración negra azulada que se observa al reaccionar espontáneamente con aminoácidos, en general con aminas primarias.<sup>(23)</sup>

Esta sustancia es responsable de la coloración azul violeta se observa sencillamente con aminoácidos, frecuentemente con aminas primarias. Existen propiedades antiinflamatorias, antiangiogénico y antioxidante de este iridoide, se le considera un potente reticulante no tóxico de las proteínas, este proceso inmediato es la fabricación de un biopolímero para un sistema de liberación controlada de fármacos.<sup>(21)</sup>

#### **2.2.1.9. Propiedades y aplicaciones tradicionales:**

Los frutos de la *genipa americana L* son comestibles, agridulces con bastante pulpa. Se hierve en agua, obteniéndose una cocción

suavizante para el cabello y reacondicionador. La cáscara y el mesocarpo, cuando fermentan forman una pasta negruzca con propiedades colorantes, se emplea para decorar vestidos y cerámicos.<sup>(22)</sup> Del árbol de esta especie se producen colorantes, jarabes, ingredientes farmacéuticos, extractos curtientes y otros materiales. En zonas remotas de América Latina se utilizan las flores para elaborar aceites aromáticos y como infusión medicinal, pero se lo acepta mejor en jugos, jaleas, confites y licores, además se le atribuye propiedades medicinales como cicatrizantes y para remover el pez parasítico *Vandellia sp* penetra en los orificios humanos.<sup>(21)</sup>

### **2.2.2. RADICALES LIBRES**

Los radicales libres son sustancias químicas reactivas que tiene un número impar de electrones. Todos sus enlaces químicos están constituidos por dos electrones y se rompen de dos formas distintas. En la fase I ambos electrones de enlace se mantienen unidos, las dos tienen fracciones con cargas diferentes, este proceso es conocido como “heterólisis”, y las fracciones cargadas son iones. En la fase II en la separación del enlace, los dos electrones se dividen proporcionalmente.<sup>(24)</sup>

Por ello los radicales libres se pueden definir como especies químicas

reactivas que en su estructura tienen uno o más electrones desemparejados en una órbita externa. Por lo tanto bioquímicamente, se puede decir que son pequeñas moléculas ubicuitarias y difusibles que se producen por distintos mecanismos.<sup>(25)</sup>

Su orbital externo lo transforma en un compuesto enormemente inestable y reducido, tienen la habilidad de producir diferentes radicales libres en las reacciones químicas en cadena y es apto de existir individualmente. La liberación de reacciones con moléculas próximas tales como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y ácidos nucleicos; hacen que la figura inestable de los radicales libres genere energía.<sup>(26)</sup>

En las reacciones metabólicas pueden crearse radicales libres en el interior de la célula, pero también se forman espontáneamente siempre y cuando el ambiente sea adecuado para estos, como por ejemplo en la exposición a algunos compuestos químicos, durante el ejercicio físico muy intenso producido en el estrés oxidativo, por drogas, contaminantes del aire, en radiaciones ionizantes, bacterias o virus.<sup>(7)</sup>

Diariamente nuestras células son atacadas por radicales libres, estos son elaborados propiamente por el cuerpo, para protegerlo de bacterias virus, por tanto son contrarrestados sin esfuerzo por el organismo. Para poder contrarrestarlos se necesita que el cuerpo produzca enzimas como la catalasa o dismutasa. Dichas enzimas poseen la habilidad de desunir

a los radicales libres sin alterar su estado por esta razón requieren años para que logren ocasionar mayores daños.<sup>(27)</sup>

#### **2.2.2.1. Funciones de los radicales libres:**

Las principales funciones de los radicales libres en el cuerpo humano son:

- Promotores de especies ferrilo.
- Oxidación de etanol por radicales libres.
- Reducción de ribonucleótidos.
- Reacciones de oxidación carboxilación e hidroxilación.
- Fagocitosis.
- Actividad de peroxidasa y NADH oxidasa.
- Maduración y respuesta al daño en tejidos vegetales.<sup>(24)</sup>
- Producción de eicosanoides.
- Factor endotelial de relajación.(Guzmán, 2009)

#### **2.2.2.2. Principales fuentes de Radicales Libres:**

El organismo está propenso a distintas especies reactivas de oxígeno y especies reactivas de nitrógeno, estas se producen por fuentes endógenas que están asociadas al metabolismo del



oxígeno y con distintas reacciones de defensa del sistema inmunitario, pero también son generadas por fuentes exógenas, como la contaminación del aire, la radiación UV, el ozono y el tabaco. Aunque las fuentes exógenas sean altamente elevadas, los riesgos a fuentes endógenas son bastante fundamental y amplias; estas se desarrollan de manera seguida a lo largo de nuestra vida en las células del organismo.<sup>(28)</sup>

Los radicales libre tiene como fuente principal a la mitocondria Esta actúa a nivel de la cadena de transporte de electrones, fase final de la fabricación de protones con elevada energía, que a través de su membrana interna produce gradiente eléctrico aportando energía para crear adenosina trifosfato (ATP). Las peroxisomas organelos del citosol muy ricas en oxidasas, generan  $H_2O_2$ ; el cual es depurado por enzimas catalasa y transformado en  $H_2O$ . La enzima NADPH oxidasa generada de  $O_2$  presente en la membrana de los leucocitos en presencia de hierro se transforma en un alto tóxico  $OH^-$ .<sup>(29)</sup>

### **1. Fuentes endógenas de Radicales Libres:**

La mayoría de agentes oxidantes que son producidos por las células originadas por fuentes endógenas son cuatro:

a. En la respiración aeróbica de transcurso normal, consumen

O<sub>2</sub> las mitocondrias reducidos en fase a H<sub>2</sub>O y se aparecen subproductos como el O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y ·OH en el periodo de este proceso.

- b. Los mediadores proinflamatorios, productos bacterianos, víricos o parásitos activan a las células fagocíticas como: Leucocitos, neutrófilos, macrófagos y eosinófilos. Destrozan las células infectadas en un ataque oxidativo generando altas cantidades de O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ·OH, NO· y OCl<sup>-</sup>.
- c. Las peroxisomas es una organela responsable de la degradación de ácidos grasos. La enzima catalasa descomponen de forma natural al H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> producido por el peroxisoma.
- d. La enzima Citocromo P450, encargada de metabolizar la oxidación del xenobiótico, previenen efectos de toxicidad aguda pero también crean subproductos oxidantes que dañan el ADN.<sup>(28)</sup>

## 2. Las fuentes exógenas de radicales libres pueden ser:

- **Ambientales.** Radiaciones electromagnéticas, mediante luz solar, ozono y tabaco.
- **Farmacológicas.** Xenobióticos ((benzopirenos, quinonas,

bipirilidos), drogas.

- **Nutricionales.** Contaminantes, aditivos, pesticidas.<sup>(30,24)</sup>

Existe otra fuente endógena de radicales libres conocida como defensa antimicrobiana, los macrófagos y leucocitos polimorfo nucleares, actúan sobre los microorganismos liberando radicales libres que ayudan en su eliminación. Por tanto los radicales libres no son totalmente dañinos, también presentan función fisiológica fundamental en el organismo vivo.<sup>(25)</sup>

### **2.2.2.3. Reacciones de los radicales libres:**

**Los radicales libres intervienen en 3 tipos de reacciones que pueden clasificarse así:**

- **Reacciones de iniciación:** El no radical es transformado en radical libre mediante reacción catalítica, ya sea por catalizador físico de la radiación ultravioleta, por químico como metales y enzimas.
- **Reacciones de auto-propagación:** Para generar un segundo radical es necesario que los radicales ya libres reaccionen con una molécula no radical, Los radicales libres formados

tienen vida media larga y actúan en moléculas no radicales modificándolo a radicales. Una reacción de cadena genera una alta cantidad de radicales libres de auto-propagación.

- **Reacciones de terminación:** Para esta fase se necesita que dos radicales libres reaccionan entre sí para unir sus electrones desapareados formando un enlace covalente.<sup>(31)</sup>

#### **2.2.2.4. Mecanismos generadores de Radicales Libres.**

Los radicales libres son producidos continuamente en las células expuestas a un ambiente aerobio. En el metabolismo aerobico existen sistemas enzimáticos antioxidantes para contrarrestar el daño oxidativo. A pesar esta defensa antioxidante, el daño oxidativo sobre las proteínas, lípidos, glúcidos y al DNA, se van acumulando a lo largo de la vida. Se crean a través de electrones en la cadena respiratoria, la activación de los leucocitos, reacciones enzimáticas (La catalizada por la xantina oxidasa) y en el metabolismo de xenobioticos. Un radical libre se forma ganando un electrón, perdiendo un electrón o por fusión homolítica simétrica de una unión covalente. Con la dieta se ingieren compuestos pro-oxidantes que generan radicales libres, el humo de tabaco, ozono.<sup>(32)</sup> La mayoría de radicales libres que

pueden dañar los sistemas biológicos son los radicales libres de oxígeno, que son conocidos normalmente como “especies reactivas de oxígeno” (EROS).<sup>(24)</sup>

### **2.2.3. ESPECIES REACTIVAS DE OXIGENO**

El término de Especies Reactivas del Oxígeno (ROS) hace referencia aquellos radicales libres y especies no radicales que participan en reacciones de elevación de agentes prooxidantes. Los ROS son moléculas altamente reactivas que atacan constantemente al cuerpo humano mediante reacciones bioquímicas redox, que ocurren como parte normal del metabolismo celular o por la exposición a factores ambientales y se forman por la reducción univalente del O<sub>2</sub> que produce el radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) cuya fuente más importante es la NADPH oxidasa durante el estallido respiratorio.<sup>(33)</sup>

#### **2.2.3.1. Clasificación de las especies reactivas:**

Existen muchas clases de radicales libres, tanto ERO (Especies Reactivas del Oxígeno) como ERN (Especies Reactivas del Nitrógeno).

#### **❖ Especies reactivas de oxígeno:**

Son generalmente moléculas muy pequeñas altamente reactivas debido a la presencia de una capa de electrones de valencia no apareada. A este grupo pertenecen las especies derivadas del oxígeno que presentan gran actividad y que son capaces de producir radicales libres en el organismo humano. Un exceso de estos pueden ocasionarse por diversos factores como por ejemplo la acción de sustancias exógenas que causan estrés al organismo por ejemplo contaminación ambiental, radiaciones, tabaquismo, alcoholismo, drogadicción, alimentación inadecuada entre otras.<sup>(34)</sup>

- **Radical peroxilo (ROO•):**

El cuál es el radical más común en los sistemas biológicos. Formado a partir de hidroperoxidos orgánicos, por ejemplo lípidos, o ROOH por pérdida de hidrogeno. Tiene una vida media relativamente larga.<sup>(35)</sup>

- **Radical hidroxilo (OH•):**

El estado de reducción de 3 electrones de molécula de oxígeno. Es la especie más reactiva, con una vida media estimada de alrededor de  $10^{-9}$ s. Puede generarse in vivo como consecuencia de radiaciones de alta energía (rayos X, rayos  $\gamma$ ) provocan rotura

hemolítica del agua corporal. Una molécula de agua no puede escindir si no hay suficiente energía de luz UV, pero si divide el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en 2 moléculas de radical hidroxilo. Otro proceso todavía más importante en la formación del radical hidroxilo es la llamada reacción de Fenton: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Fe<sup>2+</sup> + Fe<sup>3+</sup> + + OH<sup>-</sup> + OH<sup>°</sup>, así mismo a partir de agua oxigenada y del radical superóxido, el radical hidroxilo puede formarse por la Reacción de Haber-Weiss: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + O<sub>2</sub><sup>-°</sup> O<sub>2</sub> + OH<sup>-</sup> + OH<sup>°</sup> E, catalizada por metales como hierro o cobre.<sup>(26)</sup>

- **Radical superóxido (•O<sub>2</sub><sup>-</sup>):**

El anión superóxido es el radical más importante, formado en procesos enzimáticos en autooxidación y no enzimáticos, tienen base conjugada de un ácido débil, el radical perhidroxilo. Este anión superóxido es capaz de atravesar membranas y ejercer un daño directo. Los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos son moléculas ricas en protones que son oxidados por este electrón desapareado. El ERO es primario porque induce daño directo y es capaz de crear EROs secundarios como el radical hidroxilo (°OH), estos con alta toxicidad pueden reaccionar con el óxido nítrico (°NO) formando el anión no radical peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>). Producido en células eucariotas, el O<sub>2</sub> se reduce en las mitocondrias con un porcentaje aproximado de 1-3% y puede

formar el radical superóxido.<sup>(36)</sup>

- **Peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):**

El peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) es un compuesto reactivo que fácilmente genera radicales libres como el radical hidroxilo en circunstancias específicas. Es estable, permeable a las membranas, y tiene una vida media larga dentro de la célula. Es citotóxico, pero se considera un agente oxidante débil.<sup>37</sup> Es un producto secundario de la oxidación de un electrón.  $O_2 + O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$  La mayor producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ocurre por dismutación del O<sub>2</sub>. Por la enzima peróxido dismutasa. Muchas otras enzimas también la producen a partir del oxígeno: superóxido dismutasa, glucosa oxidasa, D-aminoácido oxidasa, uricasa, etc. Además se forma por auto-oxidación del ácido ascórbico catalizada por el cobre. Este radical tiene facilidad para atravesar las membranas hidrofóbicas.<sup>(38)</sup>

- **Oxígeno singlete (1O<sub>2</sub>):**

El oxígeno singlete (1O<sub>2</sub>) es una forma activa del oxígeno, que se diferencia de la forma normal, triplete, en que los electrones del orbital antienlace tienen espines opuestos. Esta forma es



mucho más reactiva que el oxígeno triplete. No es un radical libre y se forma in vivo por acción de la luz sobre las moléculas de oxígeno. Su vida media es alrededor de  $10^{-6}$  segundos, dependiendo de la naturaleza de la matriz circundante. Puede interaccionar con otras moléculas transfiriéndoles su energía de excitación o combinándose químicamente con ellas. Puede formarse en la oxidación del NADPH en los microsomas, en la actividad de varias enzimas como la xantina oxidasa, la lactoperoxidasa, lipooxigenasa y prostanglandinsintetasa, entre otras.<sup>(32)</sup>

#### ❖ **Las especies reactivas del nitrógeno:**

Son una familia de moléculas antimicrobianas derivadas del Óxido Nítrico ( $\text{NO}\cdot$ ) producido por la actividad enzimática de la Óxido Nítrico Sintasa2 (NOS2). Expresada principalmente en macrófagos luego de la inducción por citoquinas y productos microbianos, particularmente interferón-Gamma, lipopolisacáridos. Son producidas en animales a través de la reacción del óxido nítrico ( $\text{NO}\cdot$ ) con Superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) para formar Peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ). Actúan en conjunto con especies reactivas del oxígeno en el daño celular, provocando estrés nitrosativo.<sup>(39)</sup>

- **Óxido nítrico (NO•):**

El óxido nítrico es dañino cuando reacciona con superóxido para formar el anión peroxinitrico. Es un gas lipofílico e hidrosoluble, cuya vida media es larga de (3 a 5s). Su formación tiene lugar por una reacción en la que la enzima óxido nítrico-sintasa cataliza la conversión de L- 37 arginina a L-citrulina dando como sub producto NO• en numerosos tipos celulares. Dicha enzima presenta tres isoformas: la neuronal n-Nos (tipo I), la endotelial e-Nos (tipo III) y la inducible i-Nos (tipo II). Es capaz de inducir la peroxidación lipídica en lipoproteínas, interferir con la señalización celular por nitración de residuos tirosina, oxidar grupos tioles y guanosinas, de degradar carbohidratos y de fragmentar ADN.<sup>(26)</sup>

#### **2.2.3.2. Efecto nocivo de las especies reactivas del oxígeno (ROS):**

El daño celular producido por las ROS afecta diferentes macromoléculas como los lípidos, se dañan las estructuras ricas en ellas como las membranas celulares y las lipoproteínas ya sea dañando su permeabilidad oxidándolas y por lo tanto esto ocasiona la muerte celular; en las proteínas se oxidan preferentemente los aminoácidos (fenilalanina, tirosina,

triptófano, histidina y metionina) y como consecuencia se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas, fragmentación de la proteína y formación de grupos carbonilos e impiden el normal desarrollo su funcione celular, enzimas que regulan el metabolismo celular, etc); en el ADN.<sup>(33)</sup>

El daño celular producido por las especies reactivas del oxígeno ocurre sobre diferentes macromoléculas:

- ❖ **Lípidos:** El mayor daño se conoce como peroxidación lipídica, afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, Se altera la permeabilidad de la membrana celular y se produce edema y muerte celular.
  
- ❖ **Proteínas:** Hay oxidación de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; se crean entrecruzamientos de cadenas peptídicas, y por último hay formación de carbonilos.
  
- ❖ **Ácido desoxirribonucleico (ADN):** Hay pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases, interacciones estables ADN proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN.<sup>(40)</sup>

#### **2.2.4. DAÑO O ESTRÉS OXIDATIVO**

El oxígeno se encuentra en su forma más estable ( $O_2$ ); sin embargo, por reacciones puramente químicas, acciones enzimáticas o por efectos de las radiaciones ionizantes, se pueden producir una serie de especies químicas o sustancias prooxidantes (moléculas o radicales libres altamente reactivos) que son capaces de dar lugar a múltiples reacciones con otros compuestos presentes en el organismo y producir daño celular; pueden dañar a las macromoléculas (lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ácidos nucleicos) y alterar los procesos celulares (funcionalidad de las membranas, producción de enzimas, respiración celular, inducción genética).<sup>(25)</sup>

La generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) y radicales libres (RL) es inevitable en el metabolismo aeróbico. Estas especies oxidantes provocan daños acumulativos en moléculas fundamentales para el funcionamiento del organismo, tales como proteínas, lípidos y ADN. No obstante, el organismo tiene sus propios mecanismos de defensa para hacer frente a la acción de las especies oxidantes.<sup>(26)</sup>

El balance oxidativo del organismo humano es esencial para la regulación metabólica, la producción de energía, la activación o inactivación de biomoléculas, la transducción de señales, el recambio celular, el control del tono vascular entre otros. Si este balance entre los sistemas oxidantes y los antioxidantes se desequilibra a favor de los

primeros, por la producción excesiva de (EROs) y del nitrógeno (ERNs) junto con el debilitamiento de los sistemas antioxidantes induce una situación conocida como “estrés oxidativo”.<sup>(41)</sup> que lleva a una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos, los cuales provocan el deterioro y muerte celular.<sup>(33)</sup>

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio de las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno.<sup>(25)</sup>

#### **2.2.4.1. Envejecimiento y estrés oxidativo**

Las reacciones de oxidación enzimática se deben a la acción de radicales libres que con lleva al envejecimiento y la disminución de la longevidad. Los radicales libres de oxígeno son altamente reactivos y todas las células pueden ser lesionadas por los siguientes mecanismos:

1. Alteraciones oxidativas acumuladas en el colágeno, la elastina y el DNA.

2. Ruptura de mucopolisacáridos mediante la degradación oxidativa.

3. Acumulación de sustancias metabólicamente inertes, como ceras y pigmentos, y fibrosis de arteriolas capilares. <sup>(39,42)</sup>

#### **2.2.4.2. Relación estrés oxidativo y cáncer**

En la oxidación celular se encuentra el cáncer, este es resultado de interacción de factores genéticos y externos (físicos, químicos y biológicos) degenerando células, que derivan en células pre-cancerosas y finalmente tumores malignos. El estrés oxidativo están en varios tipos de cáncer, así mismo inducen un desequilibrio redox celular que se ha descrito en varios tipos de células cancerígenas por lo tanto es posible que este relacionadas con el estímulo oncogénico. En la fase I es la permanente modificación del material genético resultante de los daños por oxidación que da como resultado el envejecimiento, mutagenesis, carcinogénesis. Los ROS induce rupturas en el DNA de una o de doble hélice Purina, pirimidina asociadas a carcinogenesis.<sup>(33)</sup>

### **2.2.4.3. Enfermedades que se asocian al estrés oxidativo:**

#### **❖ Carcinogenesis:**

Es un proceso caracterizado por el crecimiento incontrolado de células cancerosas, neo-vascularización, entre otros fenómenos activados por diferentes oncogenes. Los posibles mecanismos en el cambio maligno inducido por radicales libres, identificando deficiencia de enzimas antioxidantes desencadenan alteraciones del cambio celular. El estrés oxidativo y el proceso tumoral está asociada a través de la oxidación genética y la formación de 8-oxo-dG, produciendo errores en la replicación del ADN de forma espontánea inducidos por agentes oxidantes. Se ha observado un aumento en la formación de 8-oxodG, en carcinomas de pulmón, estómago, ovario, próstata y mama con respecto al tejido sano.<sup>(43)</sup>

#### **❖ Enfermedad diabetes:**

La diabetes mellitus (DM) se caracteriza por la concentración elevada de glucosa en sangre. Existe evidencia de que esta patología, se debe a un desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de radicales libres (RL), provocando

daño oxidativo a las biomoléculas. Un aumento de ROS, como  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH$ , daña el ADN de los linfocitos de sangre periférica. Por otro lado la DM está ligada a reacciones oxidativas catalizadas por la transición de metales descompartmentalizados. Son distintos mecanismos que elevan el estrés oxidativo, especialmente en pacientes con escaso control de glicemia e hipertriglicemia, ambos intervienen en la formación de RL, incrementando la glucosilación no enzimática, la auto-oxidativa y al estrés metabólico.<sup>(44)</sup>

#### ❖ **Enfermedad de Alzheimer (EA):**

Es caracterizada por pérdida progresiva de neuronas asociada con la agregación de placas de la proteína  $\beta$ -amiloide y marañas neurofibrilares de la proteína de unión a microtubulos Tau. Una de las hipótesis actuales con respecto a la patogénesis de la EA está relacionada con la mitocondria y el estrés oxidativo. En un estudio realizado en cerebro y líquido cefalorraquídeo de sujetos con enfermedad de Alzheimer, comparado con sujetos de edad avanzada y controles jóvenes, se mostró que tanto el grupo de EA y el de edad avanzada presentaron aumento en los niveles de ERO y marcadores de oxidación en proteínas, lípidos, ADN y disminución en la actividad de la glutamina sintetasa,



reduciendo el aclaramiento de glutamato e incrementando su potencial tóxico.<sup>(45)</sup>

#### ❖ **Enfermedad de Parkinson:**

Se caracteriza por la pérdida progresiva de neuronas dopaminérgicas en la sustancia *nigra* y agregación de la proteína alfa-sinucleína. Además del envejecimiento, el estrés oxidativo está implicado en la pérdida de células nigro-estriadas y defectos en la cadena respiratoria mitocondrial. Aunado a esto, en modelo animales e *in vitro* se ha identificado una reducción en los ácidos grasos libres poliinsaturados de la sustancia *nigra* y aumento en los niveles de peroxidación de lípidos, oxidación de proteínas y ADN en comparación con el grupo control. Por otra parte, en un modelo *in vitro* de células gliales consideradas como sitios de neurodegeneración en la EP; se ha identificado muerte celular vía ERO y citoquinas proinflamatorias.<sup>(43)</sup>

#### ❖ **Enfermedad cardiovascular:**

Las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ERON) son contribuyentes en la patogénesis de numerosas enfermedades

cardiovasculares, incluyendo hipertensión, aterosclerosis y falla cardíaca. Las enzimas asociadas a membranas tipo NAD(P)H oxidasa (NOX), son una fuente importante de ROS en el sistema cardiovascular. Cada enzima contiene una subunidad catalítica denominada Nox, de las cuales hay 5 isoformas descritas (Nox 1-5), que son codificadas por genes separados.<sup>46</sup> En la hipertensión, el producto de la activación de la NADPH oxidasa, el  $O_2^-$ , promueve la oxidación de la  $H_4B$  (tetrahidrobiopterina), ocasionando un aumento en el desacoplamiento de la eNOS, elevando los niveles de esta especie de oxígeno, reduciendo la biodisponibilidad del NO (óxido nítrico).<sup>(47)</sup>

#### ❖ La Ateroesclerosis:

En la formación de placa aterosclerótica se inicia con la captación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) por los macrófagos que se transforman así en células espumosas. Estas células son captadas por el endotelio mediante moléculas de adhesión y se acumulan en el espacio subendotelial, donde inducen la migración de células musculares, su proliferación e hipertrofia. En condiciones oxidativas las lipoproteínas se fragmentan y alteran residuos de aminoácidos de la apoproteína

de la LDL. Estas LDL oxidadas o productos liberados de ellas, van a tener mayor poder aterogénico. Se ha demostrado una estrecha relación entre ERO y lipoproteínas de baja densidad (LDL) y se sabe que su aumento tiene un conocido valor predictivo directo en la aparición de aterosclerosis.<sup>(35)</sup>

❖ **Enfermedad Insuficiencia renal aguda (IRA):**

El daño tubular por isquemia/reperfusión está, ocasionado por el aumento del estrés oxidativo de la IRA. Los RLO crean la activación de la enzima xantinaoxidasa y de los neutrófilos, mecanismos importantes del daño renal por isquemia/reperfusión. El NO (óxido nítrico) aumenta en la fase isquémica y los RLO en la de reperfusión, por lo que el balance óxido nítrico y RLO condicionará la magnitud del daño, los donantes de NO tienen un potencial papel citoprotector frente a radicales libres de oxígeno, estos se presentan en el desarrollo del daño renal y en la formación de la proteinuria, lo cual es un reflejo del aumento del estrés oxidativo.<sup>(48)</sup>

### ❖ **Enfermedades Trombogénesis:**

Las especies reactivas de oxígeno alteran la función de las plaquetas. Entre ellas el ion su-peróxido y los niveles altos de peróxido de hidrógeno, en el plasma aumenta la agregación plaquetaria. Es por esto que el balance entre el ERO y el sistema antioxidante juega un rol importante en la agregación plaquetaria, la formación de trombos y el desarrollo de eventos trombóticos clínicos.<sup>(31)</sup>

### ❖ **Enfermedad de Catarata senil:**

Las EROs presentes en el cristalino debido al constante bombardeo de radiaciones diversas, son causantes de desnaturalización y degradación de sus proteínas causando las conocidas cataratas.<sup>(34)</sup>

## **2.2.5. ANTIOXIDANTES**

### **2.2.5.1. Historia de los antioxidantes:**

Desde hace algún tiempo, se plantea la posibilidad de que la

dieta podría tener importancia en la prevalencia de algunas afecciones cardiovasculares y algunos tipos de cánceres que son las dos enfermedades con mayor tasa de mortalidad en el mundo. Actualmente no hay lugar a dudas que la alimentación forma parte de uno de los eslabones principales para la prevención de múltiples patologías. Aunque éstas presenten una etiología multifactorial que incluye factores genéticos, clínicos y ambientales, se ha concluido que efectivamente la dieta desempeña un papel fundamental en el desarrollo de diversas enfermedades además de las mencionadas.<sup>(49)</sup>

#### **2.2.5.2. Definición de antioxidantes:**

Los antioxidantes son moléculas que actúan antes o durante una reacción en cadena de los radicales libres; ya sea en la etapa de iniciación, propagación, terminación, descomposición o en la subsecuente oxidación de los productos. Por otro lado, los prooxidantes son especies altamente reactivas de radicales libres o especies reactivas de oxígeno que están presentes en los sistemas biológicos; provienen de una amplia variedad de fuentes y se encuentran tanto en los alimentos como en los sistemas biológicos.<sup>(25)</sup>

Los antioxidantes protegen a las moléculas de las células del daño oxidativo producido por las especies reactivas del oxígeno (ROS), como el radical hidroxilo (OH), anion superóxido ( $O^-$ ), peroxilo ( $Ro$ ) u óxidos de nitrógeno ( $NO$ ,  $NO$ ).<sup>(8)</sup>

Las sustancias químicas de los compuestos antioxidantes impiden o retrasan la oxidación de diversas sustancias, de los ácidos grasos, se producen tanto en los alimentos como en el organismo humano. La oxidación es una reacción química donde un elemento se “oxida” por presencia del  $O_2$ ; entrega electrones e hidrógenos a un elemento reductor. Los antioxidantes también inhiben algunas reacciones de oxidación, por lo que se pueden definir como agentes reductores.<sup>(50)</sup>

**Para que una sustancia sea considerada antioxidante debe tener ciertas características. Entre las cuales más importantes son:**

- a. **Deben ser químicamente apropiadas para reaccionar con un radical libre:** habitan muchos radicales libres y no existe ninguna molécula que reaccione con todos los tipos de radicales libres con la misma eficacia.

- b. **Localización próxima al sitio de generación o reacción de radicales libres:** en el caso de la vitamina E, que es una sustancia liposoluble. Cuando un radical libre se genera en el dominio celular liposoluble, la vitamina E resulta un antioxidante efectivo.
  
- c. **Concentración suficiente de la sustancia antioxidante para contrarrestar la acción de los radicales libres:** si los radicales libres superan a las defensas antioxidantes, se produce el daño celular.<sup>(49)</sup>

**Existen dos grupos de antioxidantes:** antioxidantes sintéticos y naturales. Los antioxidantes sintéticos son compuestos fenólicos con estructuras de varios grados de la sustitución de alquilo, mientras que los antioxidantes naturales son principalmente compuestos fenólicos. En general, los antioxidantes fenólicos se pueden dividir en varios grupos diferentes en función de su estructura básica pueden ser compuestos fenólicos (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, los aminoácidos y aminos), carotenoides y el ácido ascórbico.<sup>(26)</sup>

Los antioxidantes tienen acción estabilizadora sobre los radicales libres inhibiendo la peroxidación lipídica, proceso que está involucrado en el desarrollo de diversas enfermedades comunes, en las que se incluyen la aterosclerosis y desórdenes neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer entre otras.<sup>(7)</sup>

### **2.2.5.3. Actividad antioxidante:**

Los antioxidantes son moléculas capaces de minimizar, retardar o inhibir la oxidación de otras moléculas o sustratos. Estos actúan en reacción de redox cediendo un electrón o un átomo de hidrogeno. De esta manera ejercen su acción reparando el daño oxidativo, captando directamente o neutralizando radicales libres o especies reactivas de oxígeno (ROS) o especies reactivas de nitrógeno (RNS).<sup>(51)</sup>

La mayor parte de los ensayos empleados para la determinación de la actividad antioxidante, se basan en la medición de la capacidad de los compuestos antioxidantes para reaccionar con un radical libre determinado y también del potencial que tales compuestos tendrían para reducir un complejo formado entre iones Fe(III) y el reactivo TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina).La



actividad antioxidante se expresa como porcentaje de inhibición que corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración.<sup>(50)</sup>

#### **2.2.5.4. Tipos de antioxidantes:**

Hay diferentes grupos de antioxidantes los cuales tienen una función principal en las células, protegiéndolas tanto en el exterior (extracelular) como en el interior (intracelular) dado que los radicales libres, que anteriormente hemos hablado pueden atacar la célula tanto por dentro como por fuera. Los hay solubles en agua y solubles en grasas, es importante asegurarnos que ingerimos antioxidantes de los dos tipos, para garantizar una mejor protección de la membrana celular. Para entenderlo mejor, si una persona sana únicamente ingiere antioxidantes solubles en agua provenientes de la vitamina C, vitamina A, de frutas como la cereza, uva, kiwi o fibra, las membranas de estas células seguirán siendo indefensas a los radicales libres, protegiendo solo el interior de esta, pero dejándola indefensa en el exterior. Los antioxidantes los podemos clasificar en dos grandes grupos, en los solubles en agua (hidrofilicos) y los solubles en grasa (hidrofobicos), pero también incluiremos aquellos antioxidantes por sí solo, pueden producir nuestro cuerpo sin necesidad de tener

que ingerir de forma suplementaria o a través de cualquier alimento, así como los suplementos nutricionales con propiedades antioxidantes.<sup>(25)</sup>

#### **2.2.5.5. Clasificación de los antioxidantes**

##### **Según su origen:**

- **Sistemas enzimáticos:** enzimas como glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa (SOD) y catalasa.
- **Moléculas endógenas de bajo peso molecular:** glutatión, ubiquinol y ácido úrico.
- **Sustancias de origen exógeno (dietético):** son las vitaminas C y E, carotenoides y algunos polifenoles. Este tipo de antioxidantes, son los que se recomienda consumir en los alimentos.<sup>(49)</sup>

##### **Según el mecanismo de acción:**

- **Primarios (o preventivos):** Los llamados antioxidantes primarios previenen la formación de nuevas especies reactivas de oxígeno. Esto se consigue convirtiendo las

especies reactivas de oxígeno en moléculas menos perjudiciales, antes de que puedan reaccionar, o evitando su producción a partir de otras moléculas. Ej.: proteínas como la transferrina y lactoferrina, que actúan como quelantes del hierro.<sup>(52)</sup>

- **Secundarios:** En este grupo se encuentran aquellas moléculas que son capaces de capturar o neutralizar las radicales libres, evitando así su propagación en cadena o eliminando productos nocivos. Ej.: enzimas como superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa, compuestos fenólicos, la vitamina C (ácido ascórbico), Vitamina E (Alfa-tocoferol), Àcido cítrico, El beta-caroteno, El ácido úrico, Citrato de potasio etc.<sup>(24)</sup>
- **Terciarios:** reparan o eliminan el daño causado a las moléculas biológicas que fueron dañadas por los radicales libres. Por ejemplo: enzimas reparadoras de ADN y metionina sulfóxidoreductasa.<sup>(53)</sup>

#### **2.2.5.6. Sistemas antioxidantes:**

Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para obtener energía, liberan ROS. Esta situación es incompatible con la vida, a menos que existan en las células mecanismos de defensa que las neutralicen. A estas defensas se les denomina antioxidantes y se considera como tal a cualquier sustancia que en concentraciones normales posea una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interactuar con un radical libre. El antioxidante, al reaccionar con un ROS le cede un electrón, que se oxida a su vez y se transforma en un ROS débil no tóxico (la vitamina E).<sup>(33)</sup>

Los sistemas antioxidantes, son usados como protección de radicales, donde se encuentran numerosos compuestos de diversas estructuras, como enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa, etc.), antioxidantes endógenos de bajo peso molecular (glutación, ácido úrico, etc.), antioxidantes exógenos.<sup>(52)</sup>

#### **2.2.5.7. Defensa antioxidante:**

La formación de los compuestos oxidantes es necesaria y beneficiosa para la supervivencia de los seres vivos; pero, si estas especies reactivas están en exceso serán perjudiciales. Por lo

tanto, son indispensables los antioxidantes para que los neutralicen, de manera que mantenga un equilibrio entre la cantidad de especies reactivas y las defensas antioxidantes. Los antioxidantes son un grupo de moléculas reconocidas por su capacidad para neutralizar los radicales libres; estas sustancias han surgido como una alternativa para combatir las deficiencias asociadas al estrés oxidativo. Un antioxidante puede ser definido como una sustancia, que al estar presente en baja concentración, retarde o inhiba la oxidación de esta sustancia.<sup>(27)</sup>

Las sustancias antioxidantes se han clasificado en dos principales sistemas, el sistema enzimático y el sistema no enzimático; también conocidos como endógeno y exógeno las cuales actúan tanto en el espacio intracelular como en el extracelular. El primer sistema de defensa corresponde a enzimas antioxidantes o endógenas, son complejos enzimáticos de defensa incluye a la superóxido dismutasa, la catalasa, la glutatión peróxidasa, tiorredoxina reductasa y al glutatión reductasa. El segundo son los no enzimáticos o exógenos, útiles cuando este sistema se satura. Los antioxidantes no enzimáticos en las células son el glutatión, el ácido lipoico, la bilirrubina, las ubiquinosas, los bioflavonoides, la vitamina E, la vitamina C, la vitamina A y los carotenoides.<sup>(28)</sup>

❖ **Ácido ascórbico (Vitamina C):**

Es la principal antioxidante soluble en agua y actúa como primera defensa en contra de radicales libres en sangre completa y en el plasma. Debido a la oxidación de un solo electrón al radical escorbilo, la cual se descompone en ascorbato y deshidroascorbato. La vitamina puede suprimir especies de oxígeno reactivo tóxicos, como el anión superóxido, y regenerar tocoferol a partir del radical tocoferoxilo.<sup>(54)</sup>

❖ **Tocoferoles y tocotrienoles (La vitamina E):**

Está constituida por varios tipos de compuestos naturales, de los cuales la  $\alpha$ -tocoferol tiene la mayor actividad biológica (antioxidante y estabilidad de las membranas). Se calcula que cada molécula de vitamina E es capaz de proteger 500 moléculas de fosfolípidos. Representa la principal defensa contra el daño oxidativo de la membrana en los tejidos humanos. La vitamina E es absorbida en la porción media del intestino delgado en presencia de sales biliares y lipasa pancreática; la absorción depende de la capacidad del individuo para absorber la grasa. Se absorbe aproximadamente el 50% de una ingesta diaria normal (5-15 mg/día).<sup>(39)</sup>

### ❖ **Los carotenoides:**

Son pigmentos ampliamente distribuidos en la naturaleza, que se encuentran en tejidos fotosintéticos y no fotosintéticos como raíces, flores y frutos. Los carotenoides de vegetales y animales son usualmente encontrados en fracciones lipídicas, ligados a proteínas o esterificados con ácido grasos. Dentro de una clasificación química, los carotenoides o tetraterpenoides son una clase de pigmentos terpenoides con 40 átomos de carbono derivados bio-sintéticamente a partir de dos unidades de geranylgeranylpirofosfato, en su mayoría son solubles en solventes apolares y tienen coloraciones que oscilan entre el amarillo ( $\beta$ -caroteno) y el rojo (el licopeno). Los carotenos solo contienen carbono e hidrogeno (por ejemplo el  $\beta$ -caroteno, licopeno, etc.).<sup>(26)</sup>

#### **2.2.5.8. Mecanismo de acción:**

Los grupos de compuestos más importantes son las enzimas con propiedades antioxidantes; la enzima superóxido dismutasa (SOD), la catalasa y la glutatión peroxidasa (GPX) actúan en sincronización para tratar de reducir o eliminar en forma

eficiente a la especies reactivas  $O_2^{\bullet-}$  y al  $H_2O_2$  para transformarlas en agua y oxígeno. Al inhibir la creación de  $O_2$  se disminuye la interacción entre esta molécula y el óxido nítrico, evitando formación de  $ONOO^-$ . La superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa son las enzimas antioxidantes de desintoxicación dentro de la célula. Las vitaminas C y E; el ácido úrico y el glutatión, son antioxidantes celulares que son capaces de actuar como “atrapadores”, que interactúan neutralizando reactividad.<sup>(55)</sup>

#### **2.2.6. POLIFENOLES**

Los polifenoles son compuestos activos provenientes de origen natural, saludables y ayudan a prevenir diferentes enfermedades, especialmente enfermedades cardiovasculares. Como característica presenta uno o más anillos de 11 estructura bencénica perteneciente a los compuestos aromáticos. Se les encuentra en todos los órganos de la planta: raíces, hojas, frutos y semillas.<sup>(6)</sup>

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los más numerosos y representativos grupos de metabolitos secundarios de las plantas y su relevancia radica en su participación en la fisiología y el metabolismo celular como morfología, crecimiento, reproducción, defensa contra



plagas y depredadores, y procesos germinativos, entre otros, estos compuestos están presentes en la mayoría de los productos naturales consumidos por el hombre y en estudios recientes se ha demostrado una significativa actividad antioxidante, que evidencia su potencial benéfico sobre la salud humana.<sup>(56)</sup>

**Los polifenoles pueden actuar como antioxidantes mediante dos mecanismos principales:**

- Mediante su facilidad de aportar un radical de hidrogeno de un grupo hidroxilo aromático aun radical libre, por la posibilidad de deslocalización de cargas en el sistema de dobles enlaces del anillo aromático.
- Mediante su facilidad para quelar iones metálicos (Hierro, cobre), por tanto inhiben la formación de radicales libres atreves de reacciones de feton.<sup>(57)</sup>

**2.2.6.1. Estructura de los compuestos fenólicos:**

Existen aproximadamente 8000 compuestos fenólicos que aparecen en la naturaleza, poseen: un anillo fenol (un anillo aromático), que lleva un sustituyente hidroxilo.<sup>(58)</sup>

En la estructura química los polifenoles, más que su

concentración, determinan el nivel de absorción y la naturaleza de los metabolitos circulantes en el plasma.<sup>(59)</sup>

Las clases de los compuestos flavonoides se diferencian unos de otros sólo por el grado de insaturación y oxidación del segmento carbonado. Según su estructura química se pueden clasificar en dos grupos:

♣ **Flavonoides:** antocianos, flavonas, flavononas, flavonoles y taninos condensados.

♣ **No flavonoides:**

Son fenoles no carboxílicos y ácidos fenoles derivados del ácido benzoico y del ácido cinámico.<sup>(49)</sup>

Los flavonoides son los polifenoles que poseen 2 subunidades fenólicas; los compuestos que tienen 3 a más subunidades fenólicas se denominan taninos. Los flavonoides son unos derivados hidroxilados, metoxilados y glicosilados del 2 fenil venzo alfa pirano, En base a su estructura se subdividen en 8 grupos principales: flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonoles, flavan-3-oles, antocianinas, chalconas y dihidrochalconas. Existen otros compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes pero no mantienen la estructura del 2 fenil venzo alfa pirano como son los fenoles sencillos (ácidos

benzoicos, ácidos cinámicos) y los estilbenos. <sup>(58)</sup>

### **2.2.6.2. Actividad biológica de los compuestos fenólicos:**

Los polifenoles poseen acciones molusquicidas, antihelmínticas, antihepatotóxicas, antiinflamatorias, antiúlceras, antivirales, antialérgicas, vasodilatadoras y antidiarreicas. Se ha verificado que inhiben la replicación del virus de la inmunodeficiencia Humana (HIV) y del virus simplex humano (HSV), inhiben las glucosil transferasas del *Streptococcus mutans* (caries dental), inhiben la autoxidación del ascorbato, también inhiben efectos citotóxicos, la promoción del crecimiento tumoral y la enzima xantina monoamina oxidasa. La actividad antioxidante de los fenoles es el origen de funciones biológicas tales como la antimutagénica, anticancerígena y antienvjecimiento.<sup>(60)</sup>

### **2.2.6.3. Mecanismos de acción de los polifenoles**

Los polifenoles de tipo flavonoides son antioxidantes no enzimáticos que rompen la cadena de acción de los radicales libres en la fase lipídica, bloqueando en las membranas y las lipoproteínas, evitando o previniendo la peroxidación lipídica. Limpian la sangre de radicales libres, capturándolos y evitando las reacciones en cadena. Pueden actuar como potentes

inhibidores de la oxidación de las LDL por varios mecanismos:

- Como antioxidantes, actúan como atrapadores de radicales libres. Los distintos polifenoles tienen distinta especificidad por las diferentes especies oxidantes que se generan en el organismo.
- En forma indirecta, como agentes quelantes de iones de metales, uniéndose a estos iones y reduciendo la capacidad de estos metales pesados de generar radicales libres.
- Por sus propiedades de solubilidad pueden localizarse sobre la superficie de la partícula de LDL, disminuyen el consumo de los antioxidantes propios de las LDL como vitamina E y carotenoides, y en algunos casos regenerando vitamina E oxidada en la partícula de LDL.
- Por su capacidad de inhibir, activar o proteger enzimas específicas en el organismo, los distintos polifenoles tienen cada uno actividades particulares.<sup>(49)</sup>

#### **2.2.6.4. Propiedades de los polifenoles a nivel cardiovascular:**

La mayoría son flavonoides actúan como defensa, capaces de neutralizar los procesos oxidativos, como los radicales libres. Los polifenoles tienen propiedades vasodilatadoras y vasoprotectoras, mejorando el control del tono arterial. Se ha demostrado la capacidad de los compuestos activos al inhibir la enzima convertidora de la angiotensina, incrementando la acción vasoconstrictora provocando el desarrollo de la resistencia vascular periférica y la hipertensión arterial, las enfermedades cardiovasculares tienen proceso inflamatorio. Cuando ocurre el estrés oxidativo hay un aumento de enzimas como la ciclooxigenasa o COX produce sustancias (prostaglandinas), responsable de la inflamación y la peroxidación lipídica.<sup>(59)</sup>

#### **2.2.6.5. Biodisponibilidad de polifenoles en la dieta**

Los compuestos polifenólicos no pueden ser absorbidos de la forma en que se encuentran presentes en los alimentos como ésteres, glucósidos o polímeros, estos compuestos activos tienen que pasar un proceso de hidrólisis en el intestino con la ayuda de enzimas digestivas y ser degradadas en moléculas más pequeñas y poder ser absorbidas con mayor facilidad. Los factores del medio ambiente se interponen en la concentración de polifenoles, el clima, exposición al sol o lluvia, prácticas

agronómicas, el grado de madurez y los métodos culinarios también están influyen en la cantidad de compuestos polifenólicos. La mayoría de personas realiza el pelado de la fruta o verdura, cometiendo un error y por desconocimiento eliminando una gran proporción de éstas por lo que existe una mayor concentración de polifenoles en la parte externa, es decir, en la cáscara.<sup>(6)</sup>

## **2.2.7. FUNDAMENTOS DE MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN**

### **2.2.7.1. Método de extracción:**

Los compuestos con propiedades antioxidantes, se han realizado técnicas empleando solventes organicos, combinandos a diferentes parámetros en cuanto a temperatura, tiempo de tratamiento de molienda, agitación, relación solido-líquido y en solventes como agua metanol, etanol, acetato de etilo.<sup>(61)</sup>

### **2.2.7.2. Técnica de espectrofotómetro:**

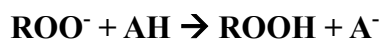
Entre este tipo de técnicas, los métodos usados comúnmente para determinar polifenoles en alimentos destacan el ensayo de

la vainillina para la determinación de compuestos flavan-3-ol, dihidrochalconas y proantocianidinas que tienen una unión simple en la posición 2,3 y poseen grupos hidroxilos en la posición meta del anillo B y el ensayo de Folin-Ciocalteu para la cuantificación de polifenoles totales, esta técnica llegó a ser la más utilizada para determinar de manera cuantitativa a los polifenoles.<sup>(62)</sup>

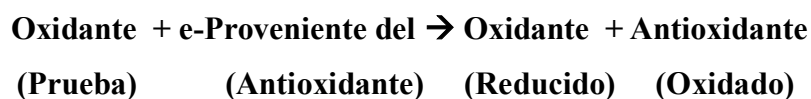
### 2.2.7.3. Medición de la actividad antioxidante:

Con base a las reacciones químicas, la gran mayoría de los ensayos para determinar de capacidad antioxidante pueden ser divididos en dos categorías:

1. Ensayos basados en la reacción por transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)



2. Ensayos basados en la reacción por transferencia de electrón



Los ensayos basados en la transferencia de electrones involucran una reacción redox con el oxidante como un indicador del punto

final de reacción.<sup>(52)</sup>

#### **2.2.7.4. Métodos de evaluación de actividad antioxidante**

Existen diversos métodos para determinar la actividad antioxidante, los cuales se basan en su capacidad para captar radicales libres. Entre ellos se pueden mencionar el uso del 2,2-difenil -1-picril hidrazilo (DPPH), ácido 2,2', azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6- sulfónico (ABTS), la reacción con el óxido nitroso, dicloridrato de N, N-Dimetilp- fenilendiamina (DMPD), generación de radicales peróxilo, superóxido e hidroxilo, y otros.<sup>(25)</sup>

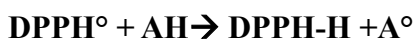
❖ **Trolox equivalente.** (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) es un análogo a la vitamina E hidrosoluble y se utiliza para reducir el daño por estrés oxidativo.<sup>(50)</sup>

❖ **Método DPPH (DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil).**

La reacción se basa en que el radical libre estable DPPH\* de un color azul intenso, sustrae un átomo de hidrógeno proveniente de una sustancia donadora de electrones, y como consecuencia de ello se produce una disminución del color



del DPPH.<sup>(7)</sup> El fundamento de esta técnica consiste en la medición a 517 nm de la reducción del radical estable DPPH. La absorbancia característica de este radical, que posee un color violeta intenso, disminuye en presencia de un antioxidante (AH) u otro radical (R·) hasta tornarlo por color pardo claro. Por tanto, es posible cuantificar la capacidad captadora de radicales libres que poseen determinados compuestos a determinación del grado de decoloración que provocan a una disolución metanólica de DPPH.<sup>(28)</sup>



#### 2.2.7.5. Métodos de evaluación de polifenoles totales

##### ❖ **Metodo Folin-Ciocalteu.**

El método de Folin-Ciocalteu es capaz de reaccionar con agentes oxidantes en compuestos fenolicos. Este reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, reaccionando con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. En PH básico la transferencia reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotungstico en óxidos de tungsteno  $\text{W}_8\text{O}_{23}$  y molibdeno  $\text{MO}_8\text{O}_{23}$  en cromógenos de color azul intenso), color grupos hidroxilo de la molécula.<sup>(63)</sup>

### **III. HIPÓTESIS**

Implicita

## **IV. METODOLOGÍA**

### **4.1. Diseño de investigación**

El presente trabajo de investigación corresponde a un estudio de tipo descriptivo, con un nivel cuantitativo ya que permitió realizar la determinación de la actividad antioxidante utilizando el radical libre 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH), y la cuantificación de polifenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu.

#### **4.1.1. Preparación del extracto metanólico (CH<sub>3</sub>OH 80%) por extracción exhaustiva:**

Para poder evaluar los distintos efectos se necesita de un preparado de extracto, para poder realizar dicho extracto exhaustivo primeramente se pesó 0.5120g de los frutos secos y pulverizados, luego se añadió 15mL de solución de metanol al 80%, este primer paso se agregó a un tubo envuelto con una capa de aluminio, luego se colocó sobre un agitador magnético durante 30 minutos. Posterior a ello fue centrifugado a 6000 rpm (revoluciones) durante 5 minutos, se separó el sobrenadante en una fiola de 50mL (envuelto con una capa de aluminio), este proceso se realizó 3 veces. Por último se llevó a volumen con el solvente agua tipo II.

#### **4.1.2. Preparación de la muestra seca en infusión:**

En un vaso de precipitación se añadió 200 mL de agua tipo-II la cual se llevó a calor hasta su ebullición luego se retiró y se agregó 1.83g de la muestra de los frutos secos y pulverizados posteriormente se cubrió con el papel aluminio y se dejó reposar durante 10 minutos. Por último se deja enfriar hasta su posterior análisis.

#### **4.1.3. Preparación de la muestra seca en decocción:**

En un vaso de precipitación se agregó 200 mL de agua tipo-II y se llevó a calor hasta su ebullición, ni bien aparece la ebullición se agregó los 1.05g de los frutos secos. Por último se cubrió con papel de aluminio y se dejó en ebullición durante 10 minutos más. Se deja enfriar para su posterior análisis.

#### **4.1.4. Preparación del DPPH:**

Se preparó 100 ml del reactivo con metanol, para ello se utilizó 2.3mg de polvo de DPPH y se aforó con metanol en la fiola de 100ml, para tenerlo 0.06Mm.

❖ **Determinación de la capacidad antioxidante por el método de 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazil (DPPH):**

En una cubeta se adicionó 1450µL de DPPH a 0.06 mM, luego se llevó a leer al espectrofotómetro a una longitud de onda de 515nm para obtener la absorbancia a tiempo cero (DPPH t0), a continuación a ello se agregó 50µL del extracto de frutos respectivamente y se dejó por 15 minutos en oscuridad, finalmente se obtuvo la absorbancia a tiempo 15 (DPPH t15). El análisis se realizó por triplicado para cada una de las muestras.

Como estándar se utilizó el Trolox a concentraciones de 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 mM, para obtener la curva de calibración.

Para determinar el % de inhibición se utilizó la siguiente fórmula:

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

#### **4.1.5. Determinación de polifenoles totales mediante el método de Folin – Ciocalteu:**

En una fiola de 10 ml se agregó 2,5 ml de agua tipo-II, después se añadió el estándar de catequina a concentraciones de 0,5; 1; 2,5; 5 y 10 ppm (mg/L) para obtener la curva de calibración a las demás fiolas se adicionó 100 µL de extracto metanólico al 80%, 25µl de infusión y 50 µl de la decocción. Posteriormente se agregó 500 µL de Folin Ciocalteu y se llevó a oscuridad por 5 minutos. Pasado los minutos se agregó 2 ml de carbonato de sodio al 10%, seguidamente se aforó con agua tipo-II rápidamente se llevó a oscuridad por 90 minutos, el análisis se realizó por triplicado por cada una de las muestras (Metanólico, Infusión y decocción). Por último se realizó la lectura en el espectrofotómetro ÚNICO 2800 UV/Vis a una longitud de onda de 700 nanómetros.

#### **4.2. Población y muestra:**

##### **4.2.1 Obtención de la droga vegetal:**

La especie *Genipa americana* L“JAGUA” se recolecto en la provincia de Tocache del departamento de Amazonas, entre los meses de setiembre del 2018 a 1500 m de altitud.

❖ **Muestra vegetal:**

El estudio fue realizado con los frutos de la especie. Se obtuvo aproximadamente 1 kg de los frutos los cuales fueron secados a 60°C por 3 días en la estufa, así mismo se trituraron estos frutos hasta obtener trozos pequeños para poder pulverizarlos en un molino mecánico hasta obtener partículas finas. Se utilizó solo 100g de estos frutos pulverizados para determinar la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles totales presentes en la especie *Genipa americana* L “JAGUA”.

#### 4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
Actividad antioxidante del extracto de los frutos secos a diferentes preparados de la <i>Genipa americana L.</i> “JAGUA”	La actividad antioxidante es una sustancia que cuando se encuentra a bajos niveles de concentraciones en un sustrato oxidable, retarda su misma oxidación.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Capacidad de secuestro y/o inhibición de radicales libres. (MÉTODO DPPH)</li> <li>• A medida que hay un mayor secuestro de los radicales libres por un antioxidante, la absorbancia disminuye.</li> </ul>	mM trolox eq/ gr de muestra seca
Contenido de Polifenoles totales de los frutos de la <i>Genipa americana L.</i> “JAGUA”.	Son grupos heterogéneos de moléculas que tienen la característica de tener en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas.	Técnica de Folin-ciocalteu	Mg de catequina eq/gr de muestra seca



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

Se utilizaron la observación directa, medición, registro de las reacciones de coloración y otras características que se observaron en la medición de las concentraciones totales de polifenoles (espectrofotométrica). Los datos obtenidos fueron registrados en fichas de recolección de datos.

#### **4.5. Plan de análisis**

Los datos se procesaron en considerando medidas de tendencia central, promedio, desviación estándar y presentada en tablas con ayuda del Microsoft Excel. Regresión líneal para la calibración del estándar.

#### **4.6. Matriz de consistencia**

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLE	TIPO DE INVESTIGACIÓN	METODOLOGÍA	POBLACIÓN Y MUESTRA
Actividad antioxidante y contenido de polifenoles del extracto del fruto de la <i>Genipa americana L</i> “JAGUA”	¿Tendrán actividad antioxidante y contenido de polifenoles el extracto del fruto de la <i>Genipa americana L</i> “JAGUA”?	<p><b>Objetivos generales:</b> Determinar la actividad antioxidante del extracto del fruto de la <i>Genipa americana L</i> “JAGUA”.</p> <p><b>Objetivos específicos:</b> Determinar la concentración de polifenoles totales con la capacidad antioxidante de la <i>Genipa americana L</i> “JAGUA”.</p>	Implicita	<ul style="list-style-type: none"> <li>Actividad antioxidante del extracto de los frutos de la <i>Genipa americana L</i> “JAGUA”</li> <li>Contenido de Polifenoles totales de los frutos de la <i>Genipa americana L</i> “JAGUA”.</li> </ul>	Descriptivo	<ul style="list-style-type: none"> <li>Determinación de polifenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu</li> <li>Determinación de capacidad antioxidante según el método de DPPH.</li> </ul>	<p><b>Población vegetal:</b> Conjunto de frutos de la <i>Genipa americana L</i> “JAGUA”</p> <p><b>Muestra vegetal:</b> Se empleó Aprox. 1kg de los frutos</p>

#### **4.7. Principios éticos**

Se buscó recuperar el conocimiento del uso tradicional de plantas medicinales, no solamente 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 población. Como finalidad es contribuir con la protección de la biodiversidad.

## V. RESULTADOS

### 5.1. Resultados

**Tabla 1:** Actividad antioxidante en muestra de los frutos de la *Genipa americana L* “JAGUA” expresado en mM trolox eq./g de muestra seca.

<b>Tipo de Muestra</b>	<b>Parte de la planta</b>	<b>Tipo de extracto</b>	<b>DPPH (mM Trolox eq./g muestra seca)</b>
<i>Genipa americana L</i>	Frutos	Exhaustiva (Metanólica al 80%)	7.49 ± 0.25
<i>Genipa americana L</i>	Frutos	Infusión	10.10 ± 1.71
<i>Genipa americana L</i>	Frutos	Decocción	15.22 ± 0.44

Fuente: Datos propios de la investigación

**Tabla 2:** Contenido de polifenoles totales por gramo de los frutos secos de la *Genipa americana L* “JAGUA” expresado en mg de catequina eq./g de muestra seca.

<b>Tipo de Muestra</b>	<b>Parte de la planta</b>	<b>Tipo de extracto</b>	<b>Polifenoles totales (mg de catequina eq./g de muestra seca)</b>
<i>Genipa americana L</i>	Frutos	Exhaustiva (Metanólica al 80%)	7.04 ± 0.93
<i>Genipa americana L</i>	Frutos	Infusión	3.97 ± 0.18
<i>Genipa americana L</i>	Frutos	Decocción	1.62 ± 0.14

Fuente: Datos propios de la investigación.

## 5.2. Análisis de resultados

En la actualidad existen algunas investigaciones que mencionan que los polifenoles son sustancias aromáticas que se derivan de los ácidos mevalónico y shikímico.<sup>(65)</sup> Los compuestos fenólicos, presentan en su estructura uno o más anillos aromáticos con al menos un sustituyente hidroxílico. Están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, se metabolizan como metabolitos secundarios con funciones de defensa, y son por lo general responsables por el color, astringencia y sabor de los vegetales.<sup>(8)</sup> La actividad

antioxidante es uno de los más seguidos en la actualidad, debido a su importancia en el estrés oxidativo y los efectos perjudiciales de las especies reactivas de oxígeno en diversas patologías.<sup>(36)</sup>

Para la actividad antioxidante, la técnica de DPPH se basa en la disminución en absorbancia a una longitud de onda característica, en un máximo de absorbancia de 515nm. La capacidad del radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo reacciona con donadores de hidrógeno. En la captura de un hidrogeno se presenta el producto incoloro, de esta manera, se mide la disminución de la absorbancia de una disolución estable del radical DPPH en presencia de sustancias antioxidantes con grupos OH activos donadores de hidrógeno capaces de capturar los radicales libres. Por tanto la desaparición del DPPH• proporciona un índice para atrapar los radicales libre estimando la capacidad del compuesto.<sup>(28)</sup>

La tabla 1 presenta las distintas actividades antioxidantes de la especie vegetal *Genipa americana L* “JAGUA” dicho efecto es demostrado en los frutos secos. Mediante la técnica DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil), se observa que existe actividad antioxidante mediante las distintas extracciones, identificando en la extracción con metanol al 80% una cantidad de  $7.49 \pm 0.25$ /mM Trolox Eq./g muestra seca. En extracto por infusión se encontró un  $10.10 \pm 1.71$ /nM de Trolox eq./g de muestra seca. Por ultimo en decocción una actividad de  $15.22 \pm 0.44$ /mM de Trolox eq./g de muestra seca.

Teniendo en cuenta el estudio de Aguilar en el año 2013, según su estudio en

la actividad antioxidante de frutos de *Genipa americana* L. ("Huito"), identificando el contenido de compuestos fenólicos con una cantidad de  $219.40 \pm 1.49$ /mg AG/g de extracto, en cuanto a su actividad antioxidante frente a los radicales ABTS se obtuvo  $73.41 \pm 6.10$ /μmol de Trolox eq./g de extracto. Esto determinó que los frutos de la *Genipa americana* L "JAGUA" poseen actividad antioxidante y contenido de fenoles, por lo que podría utilizarse como antioxidante natural.<sup>(14)</sup>

Comparando la investigación de Sotero et al. Donde evaluó la actividad antioxidante de los frutos de la *Genipa americana* L "JAGUA". Se obtuvo extractos metanólicos de muestras secas y se evaluó la actividad antioxidante mediante el método por reducción del radical 1.1-difenil-2- picrilhidrazil (DPPH), con absorbancia de 515 nm. La determinación de polifenoles se realizó, utilizando el reactivo de Folin Ciocalteu y un patrón de catequina para la curva estándar, efectuándose la lectura a 765 nm. Donde se encontró una inhibición de radicales libres de ( $8261.01 \pm 0.019$ /μmol de Trolox ep./g de extracto) y en su contenido de polifenoles, se reporta en la pulpa del fruto una cantidad de ( $137.15 \pm 0.03$ /mg de catequina eq./g de muestra seca), en las semillas un contenido de ( $26.81 \pm 0.017$ /mg de catequina eq./g de muestra seca) y por último en la cascara el ( $7.92 \pm 0.05$ /mg de catequina eq/g de muestra seca). Por estos resultados podemos decir que el fruto de la *Genipa americana* L "JAGUA" tienen actividad antioxidante para inhibir o neutralizar los radicales libres.

Para cuantificar los polifenoles totales, se procedió mediante el método de Folin-Ciocalteu que contienen molibdato y tungstato sódico. En este método los fenoles tienen la capacidad de reaccionar con agentes oxidantes en PH básico, a través de la reducción de los fenoles totales creado por complejos de ácido fosfotungstico-fosmolibdico, generando de esta manera óxidos de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y molibdeno ( $MO_8O_{23}$ ) de un color azul intenso con una absorbancia máxima de 765nm. Por tanto cuya intensidad es la que se mide para poder determinar el contenido en polifenoles totales valorado espectrofotométricamente. <sup>(66, 67)</sup>

Los datos obtenidos, en la tabla 2, presentan el contenido de polifenoles totales en la especie vegetal *Genipa americana L* “JAGUA” de sus frutos en estudio por el método de Folin-Ciocalteu. Se observa que mediante una extracción exhaustiva con metanol al 80% existe una cantidad de polifenoles de  $7.04 \pm 0.93$ /mg de catequina eq./g de muestra seca. En el extracto por infusión se obtuvo un contenido de  $3.97 \pm 0.18$ /mg de catequina eq./g de muestra seca. Por último en la extracción por decocción se encontró  $1.62 \pm 0.14$  /mg de catequina eq/g de muestra seca.

En algunas investigaciones como el estudio de Mango E y Durand J, en la obtención de polifenoles de hojas de *Genipa americana L* “JAGUA”, en donde se realizó una elucidación estructural de compuestos polifenólicos aislados de hojas de *Genipa americana* “JAGUA” en cromatografía de capa fina, se desorbieron manchas positivas al tricloruro de fierro que indicaba la



presencia de compuestos de estructura fenólica, se corrió sus respectivos espectros UV-Vis en etanol con una lámpara de luz UV a 254 nm y 366 nm. Lo cual se encontró la presencia de diferentes compuestos fenólicos en los extractos de la (*Genipa americana L*) de estructuras químicas como: 3', 4', 5', 5, 7-pentahidroxi-6,8-dimetoxiflavona, 3', 4', 5,7-tetrahidroxi- 6,8-dimetoxiflavona, 4, 5, 6,7-tetrahidroxi-3-metoxiflavona, 4-metoxiflavona.<sup>(6)</sup>

Valorando los datos obtenidos por el autor Rivadeneira, según su estudio en la cuantificación de compuestos fenólicos presentes en los frutos de la *Genipa americana L* "JAGUA", donde utilizó los reactivos etanol, metanol y el método folin-ciocalteu (FC) expresados como patrón mg de ácido gálico equivalente. Para este proceso se utilizó la cascara y frutos, en la cuantificación de datos se obtuvo en el solvente etanol con una media de 175 y 141 ppm, así mismo con el metanol los valores fueron una media de 70 a 65 ppm para extractos de pulpa y cáscara con una absorbancia a 750nm.<sup>(17)</sup>

El autor Martínez 2015 menciona que los polifenoles, generalmente tienen la mayor parte de actividad antioxidante en frutas y verduras, refiere que se clasifican en flavonoides y no flavonoides y estos generalmente son divididos en taninos hidrolizables que son ésteres del ácido gálico.<sup>(50, 68)</sup> En un estudio de marcha fitoquímica de la *genipa americana L* "JAGUA", se observó compuestos fenólicos tipo flavonoides, quinonas y glicósidos, por tanto se puede decir que por estos compuestos presentes en los frutos secos de esta especie vegetal tienen mayor contenido de polifenoles.<sup>(6)</sup>

## VI. CONCLUSIONES

1. Se cuantificaron por distintos métodos los extractos de la *Genipa americana* L “JAGUA”, la actividad antioxidante se realizó mediante la técnica del secuestro de radical libre por método DPPH y el contenido de polifenoles por método Folin-Ciocalteu.
2. Se determinó la actividad antioxidante en los frutos secos de la *Genipa americana* L “JAGUA”, y los resultados obtenidos fueron en extracción por metanol al 80%, infusión y decocción ( $7.49 \pm 0.25$ ,  $10.10 \pm 1.71$  y  $15.22 \pm 0.44$ /mM trolox Eq./g de muestra seca respectivamente).
3. Se determinó el contenido de polifenoles totales en los frutos de la *Genipa americana* L “JAGUA”, y se obtuvo como resultado en la extracción con metanol al 80%, infusión y decocción una cantidad de ( $7.04 \pm 0.93$ ,  $3.97 \pm 0.18$ ,  $1.62 \pm 0.14$ /mg de catequina eq./g de muestra seca respectivamente)

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Huaranca, R, Armas, J, Rubí, T. Uso de las plantas medicinales en la comunidad El Chino, del área de conservación regional comunal Tamshiyacu-Tahuayo, Loreto, Perú.[Revista en línea].2013.[Citado el 25 de junio del 2017]; 1(10).Disponible en: <http://revistas.unapiquitos.edu.pe/index.php/Conocimientoamazonico/articulo/download/101/196>
2. Olivares, F.Efecto antibacteriano in vitro DEL aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum* L.“albahaca” frente a *Staphylococcus aureus*. [Tesis].Peru: universidad católica los ángeles de Chimbote; 2018[Citado el 17 de setiembre del 2018].Url disponible en: [http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/5241/EFFECTO\\_ANTIBACTERIANO\\_ACEITE\\_ESENCIAL\\_OLIVARES\\_PACHECO\\_FELICITA\\_CLARISA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/5241/EFFECTO_ANTIBACTERIANO_ACEITE_ESENCIAL_OLIVARES_PACHECO_FELICITA_CLARISA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
3. Prado, L R.“Estudio fitoquímico de la corteza de capriona *Calycophyllum spruceanum* en la zona de Pucallpa”. [TESIS PARA TITULO].Lima: universidad nacional agraria la molina, facultad de ciencias forestales;2009. [citado el 20 de julio del 2017]. Url disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/425/F60.P8-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
4. Chavez M, Eustaquio C. Identificación preliminar de los metabolitos secundarios de los extractos acuosos y etanólicos de los frutos y hojas de *Morinda citrifolia* L. “noni” y cuantificación espectrofotométrica de los flavonoides totales” [Tesis].Perú: Universidad nacional de Trujillo; 2010.[Citado el 15 de octubre del 2018].Url disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4767/Chavez%20Gana%20Maria%20Haydee.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

5. Zapata, E. Potencial antioxidante de un extracto acuoso de hojas del NIM (Azadirachta Indica A. Juss). [Revista]. Cuba: Revista Cubana de Plantas Medicinales; 2014. [citado el 17 de setiembre del 2018]. Url disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962014000200009](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000200009)
  
6. Mango E, Aldava J. "obtención de polifenoles de hojas de genipa americana (jagua) y evaluacion de su actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos." [tesis]. Perú: Universidad inca Garcilaso de la vega, facultad de ciencias farmacéuticas y bioquímica; 2018. [citado el 20 de junio del 2018]. Url disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2229/Tesis%20MANGO%20MAMANI-%20DURAND%20ALDAVA.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
  
7. Olviera, G. "Capacidad antioxidante de Averrhoa carambola L. (CARAMBOLA) Frente a sistemas generadores de radicales libres". [Citado el 17 de setiembre del 2018]. Perú: Universidad Nacional mayor de san marcos; 2014. Url disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3943/Oliveira\\_bg.pdf?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3943/Oliveira_bg.pdf?sequence=1)
  
8. Sotero V, Silva L, Zegarra C, Maco M, Davila E, Ramirez w, Garcia D. Evaluación de la actividad antioxidante de seis frutales amazónicos: anona, castaña, chope, huasaí, huito y uvilla. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP). Facultad de Ingeniería Química. Departamento de Química. Freyre 616. Iquitos; 2011. [Citado el 20 de junio del 2018]. Url disponible en: <http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/PUBL1177.pdf>

9. Rengifo, S. salud y bien vivir con plantas medicinales amazónicas.[web]. Instituto de investigaciones de la Amazonía peruana.2010. [Citado el 20 de julio del 2017]. Disponible en: <http://190.187.112.98/webiiap/cdpublicaciones2011/documentos/pdf/piba/pu/29.pdf>
10. Santamaria, E. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de malva (malva sylvestris l.) y aguacate (p. americana) en ratones (mus musculus).[Tesis]. Escuela superior politécnica de chimborazo facultad de ciencias escuela de bioquímica y farmacia; 2013.1(1);1-1[citado el 20 de julio del 2017].Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3231/1/56T00411.pdf>
11. Giraldo P, Hernandez M, Angulo P, Fuertes C14 actividad antinitrosativa y antiinflamatoria de los flavonoides de las hojas de la Uncaria tomentosa.[Tesis]. Perú: Instituto de ciencias farmacéuticas y recursos naturales. facultad de farmacia y bioquímica;2003.2(2).229-242.[citado el 06 de octubre del 2018].Url disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/publicaciones/rsqp/n4\\_2003/a05.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/publicaciones/rsqp/n4_2003/a05.pdf)
12. Vasquez, S. evaluación del uso e impacto de especies de flora utilizadas en medicina tradicional en la ciudad de tamshiyacu, loreto, Perú. [Tesis]. Perú: universidad nacional de la amazonia peruana facultad de agronomía; 2014.[citado el 20 de julio del 2017].Disponible en: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3242/TESIS%20PARA%20LIBRO%20SEVERIANO.pdf?sequence=1>

13. Crisostomo A, Osorio Y, Peña M. Actividad antibacteriana in vitro del extracto del jagua (genipa americana l.) frente a Staphylococcus sp, 2014. [Tesis].Perú: Universidad nacional "hermilio valdizán" huanuco facultad de medicina veterinaria y zootecnia escuela académico profesional de medicina veterinaria; 2014. [Citado el 06 de octubre del 2018]. Url disponible en: <http://repositorio.unheval.edu.pe/bitstream/handle/UNHEVAL/669/TMV%2000201%20C89.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
14. Aguilar, A. Determinación de compuestos volátiles, análisis químico proximal y actividades antioxidante e inhibitoria de enzima elastasa de frutos de Pouteria caimito (R&P) Radlk ("Caimito") y Genipa americana L. ("Huito").[Tesis].Perú: Universidad peruana Cayetano Heredia; 2013.[Citado el 06 de octubre]. Url disponible en: <http://repositorio.upch.edu.pe/handle/upch/1280?show=full>
15. Mesones G, Donayre L. Efecto antimicrobiano de Bixa orellana "achiote", Genipa americana "huito" y Pistia stratiotes "huama" Sobre agentes que producen infecciones dermicas y vaginales.[Tesis].Perú: Universidad nacional de amazonas peruana; 2007. [Citado el 06 de octubre del 2018].Url disponible en: <file:///D:/Documents/Gisela Tesis Titulo 2007.pdf>
16. Daza, M. Polifenoles totales y capacidad antioxidante en Calycophyllum spruceanum (Benth.) Hook. f. ex Schum. capirona.[tesis].Perú: Laboratorio de Análisis de Alimentos de la Universidad Nacional Agraria de la Selva; 2006.1(1).1-1.[Citado el 06 de octubre del 2018].Url disponible en: <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/655>

17. Rivadeneira, A. Determinación de la actividad bactericida de los compuestos fenólicos presente en la sua ( *Genipa americana* L.) frente a *staphylococcus*. [Tesis]. Ecuador; Universidad politécnica salesiana 2018. [Citado el 6 de noviembre del 2018]. Url disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16233/1/UPS-CT007885.pdf>
18. Velasquez, C. Obtención y caracterización del entrecruzante natural genipina a partir del fruto del caruto (*Genipa americana* L.). [Tesis]. Venezuela: Ciencias universidad de los andes Venezuela; 2014.1 (85).1-85. [citado el 06 de octubre del 2018]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/265965067\\_Obtencion\\_y\\_caracterizacion\\_del\\_entrecruzante\\_natural\\_genipina\\_a\\_partir\\_del\\_fruto\\_del\\_caruto\\_Genipa\\_americana\\_L](https://www.researchgate.net/publication/265965067_Obtencion_y_caracterizacion_del_entrecruzante_natural_genipina_a_partir_del_fruto_del_caruto_Genipa_americana_L)
19. Matzner, A. Evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de corteza de tallo de *Uncaria tomentosa* en ratas sometidas a inflamación subplantar con carragenina. [tesis ]. Chile: Universidad austral de Chile facultad de ciencias veterinarias instituto de farmacología; 2014. [Citado el 06 de octubre del 2018]. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2002/fvm446e/doc/fvm446e.pdf>
20. John, F. *Genipa americana* L. Jagua, *genipa* Rubiaceae Familia de las rubias. [artículo]. 1993: Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. [citado el 20 de julio del 2017]. Url disponible en: [https://rngr.net/publications/arbolesdepuertorico/genipaamericana/at\\_download/file](https://rngr.net/publications/arbolesdepuertorico/genipaamericana/at_download/file).

21. Tenesaca, S. Elaboración de cosméticos decorativos a partir de frutos verdes de genipa americana L.”Tesis].Ecuador: Escuela superior politécnica de Chimborazo facultad de ciencias escuela de bioquímica y farmacia;2012.103(8).1-103.[Citado el 20 de julio del 2017].Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/2022/1/56T00317.pdf>
  
22. Rojas, C.Aislamiento de pigmentos de huito (genipa americana) y aplicación en teñido de fibras proteicas (alpaca).[tesis].Perú: universidad nacional de ingeniería facultad de ingeniería química y textil;2013.[Citado el 20 de julio del 2017]. Url Disponible en: [http://cybertesis.uni.edu.pe/bitstream/uni/2353/1/rojas\\_rc.pdf](http://cybertesis.uni.edu.pe/bitstream/uni/2353/1/rojas_rc.pdf)
  
23. Martinez, E. “elaboración de un producto cosmético para tinción del cabello a partir del extracto de los frutos del huito, planta nativa del centro cultural unishu de la comuna chiguilpe de santo domingo de los tsáchilas”.[tesis].Ecuador: universidad regional autónoma de los andes “uniandes”;2016.[Citado el 23 de junio del 2018].Url disponible: <http://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/4782/1/PIUABQF008-2016.pdf>
  
24. Guzmán A. Actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial y extractos (crudo, acuoso, y etanólico) de Pipicha (Porophyllum tagetoides).[Tesis]. Mexico: Universidad veracruzana instituto de ciencias básicas;2009.[Citado el 22 de octubre del 2018].Url disponibleen: <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/46803/GuzmanMoralesAnaPaola1d2.pdf;jsessionid=F9FF33F531D38C635340ECABCBE8E8?sequence=2>



25. Figueroa S, Mollinedo O. Actividad antioxidante del extracto etanólico del mesocarpio del fruto de *Hylocereus undatus* “pitahaya” e identificación de los fitoconstituyentes.[Tesis].Peru: Facultad de farmacia y bioquímica escuela académico profesional de farmacia y bioquímica.[Citado el 27 de octubre del 2018]. Url disponible: en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/924/TITULO%20-%20Mollinedo%20Moncada%2C%20Ofelia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
26. Muller, K. “Capacidad antioxidante y contenido de flavonoides entre las semillas de chia negra (salvia nativa) y chia blanca (salvia hispánica l.) Puno, octubre 2014 – enero 2015” .[Tesis].Peru: Universidad nacional altiplano;2015.[Citado el 27 de octubre del 2018].Url disponible en: [http://tesis.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2376/Muller Tito Kely Eusebia.pdf?sequence=1](http://tesis.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2376/Muller_Tito_Kely_Eusebia.pdf?sequence=1)
27. Parrera A, Julca A. Determinación del efecto antioxidante del extracto etanolico de las hojas de stevia rebaudiana Bertoni frente al 2,2-difenil-1-picrihidrazil.[Tesis]. Perú: Universidad nacional de Trujillo; 2016.[Citado el 27 de octubre del 2018].Url disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1416/Avila%20Parrera%20Anderson%20II.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
28. Alvares P, Cardenas J. Aplicación del método químico DPPH para determinar la capacidad antioxidante presente en una mermelada de tuna. [Tesis].Ecuador: Universidad de guayaquil facultad de ingeniería química; 2010.[Citado el 27 de octubre del 2018].Url disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/2012/1/1057.pdf>

29. Suzaño, P. Estandarización de métodos espectrofotométricos para la determinación de malondialdehído y carboxihemoglobina en estrés oxidativo. [Tesis]. Bolivia: universidad mayor de san Andrés facultad de ciencias farmacéuticas y bioquímicas; 2014. [Citado el 27 de octubre del 2018]. Url disponible en: <http://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/5687>
30. Martínez, J. "Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de heliocardus terebinthinaceus" [Tesis]. México: Universidad tecnológica de la mixteca; 2007. [Citado el 27 de octubre del 2018]. Url disponible en: [http://jupiter.utm.mx/~tesis\\_dig/10150.pdf](http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10150.pdf)
31. Ramos, A. "Estudio del estrés oxidativo en pacientes que siguen o no programa de rehabilitación cardíaca". [Tesis]. Granada: Universidad de Granada. facultad de farmacia departamento de fisiología. Instituto de nutrición y tecnología de los alimentos "JOSE MATAIX"; 2014. [Citado el 28 de octubre del 2018]. Url disponible en: <https://hera.ugr.es/tesisugr/24001582.pdf>
32. Chavez T, "Efecto antioxidante del alopurinol sobre la disfunción endotelial producida por hiperglicemia aguda en tejido aórtico de ratas normales, arequipa 2013". [Tesis]. Perú: Universidad católica de santa maría facultad de ciencias farmacéuticas, bioquímicas y biotecnológicas programa profesional de farmacia y bioquímica; 2014. [Citado el 28 de octubre del 2018]. Url disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/54221104.pdf>
33. Barrera, A. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de cuatro frutos de interés comercial en Colombia y actividad citotóxica In vitro en la línea celular de fibrosarcoma HT1080. [Tesis]. Colombia: Pontificia Universidad Javeriana; 2011. [Citado el 27 de octubre del 2018]. Url disponible en:  
<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8850/tesis793.pdf?sequence=1>

34. Paredes, D. “Estudio fitoquímico y actividad antioxidante in vitro de hojas y flores de passiflora mixta”. [Tesis]. Ecuador: Escuela superior politécnica de chimborazo facultad de ciencias escuela de bioquímica y farmacia; 2016. [Citado el 27 de octubre del 2018]. Url disponible en: [http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4903/1/56T00621%20UDC TFC.pdf](http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4903/1/56T00621%20UDC%20TFC.pdf)
35. Ahumada O, Bardales M. Perfil enzimático antioxidante en habitantes de Nueva Cajamarca – San Martín. [Tesis]. Peru: Universidad nacional mayor de san marcos facultad de farmacia y bioquímica; 2011. [Citado el 28 de octubre del 2018]. Url disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2272/Ahumada\\_d o.pdf?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2272/Ahumada_d_o.pdf?sequence=1)
36. Ahuashwashi, M. Estudio analítico y de la actividad antioxidante de "Rosmarinus officinalis" L. de la Península Ibérica. [Tesis]. España: Universidad complutense de madrid facultad de farmacia departamento de farmacología; 2018. [Citado el 27 de octubre del 2018]. Url disponible en: <https://eprints.ucm.es/46635/1/T39629.pdf>
37. Cabrera C, Robles, E. Evaluación del efecto antioxidante del ejercicio moderado y continuo en individuos con entrenamiento físico regular. [Tesis]. Peru: Universidad nacional mayor de san marcos facultad de farmacia y bioquímica departamento académico de bioquímica; 2010. [Citado el 28 de octubre del 2018]. Url disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/833/Cabrera\\_gc.p df?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/833/Cabrera_gc.pdf?sequence=1)

38. Quisirumba, J. Efecto de la glutamina y el zinc sobre el estado oxidativo del pollo de engorda y su repercusión en la eficiencia productiva.[Tesis].Mexico: Universidad nacional autónoma de México facultad de medicina veterinaria y zootecnia;2014.[Citado el 27 de octubre del 2018].Url disponible en: <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/2582/1/T-SENESCYT-01090.pdf>
39. Jorgelina, G. Consumo de Antioxidantes Naturales y Esteroles Vegetales en Adultos Mayores entre 65 y 75 años con Dislipidemia [Tesis].Argentina: Universidad abierta interamericana;2011.[Citado el 28 de octubre del 2018].Url disponible en: <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC111587.pdf>
40. Córdova D, Dardón R, González J, Menéndez M. “Determinación y cuantificación de la actividad antioxidante de especies nativas y su posible fuente para el desarrollo de nutricoséuticos”. [Tesis].Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia;2009.[Citado del 28 de octubre del 2018].Url disponible en: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_2828.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2828.pdf)
41. Benites, J. Valoración del estrés oxidativo producido por el ejercicio físico inducido en dos grupos de varones prepuberales y puberales.[Tesis]. Argentina: Universidad de Córdoba; 2009. [Citado el 28 de octubre del 2018].Url disponible en:[https://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/2352/abre\\_fichero.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/2352/abre_fichero.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
42. Zorrilla, A. El envejecimiento y el estrés oxidativo.[Revista].Cuba: Rev Cubana Invest Biomed.Centro nacional coordinador de ensayos clínicos; 2002.[Citado el 3 de noviembre del 2018].Url disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol21\\_3\\_02/ibi06302.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol21_3_02/ibi06302.pdf)

43. Sanchez V, Mendes N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. [Artículo].Mexico: Departamento de investigación biomédica, fundación clínica médica sur; 2013. [Citado el 2 de noviembre del 2018].Url disponible en: <http://www.medicaplinea.com.mx/pdf-revista/RMS133-AR01-PROTEGIDO.pdf>
44. Ramos M, Barista C, Gomez B, Zamora A.Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. [Artículo].Mexico: Centro universitario de ciencias de la salud; 2006.[Citado el 3 de noviembre del 2018].Url disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14280102>
45. Acosta, T.“Efecto del tipo de cultivo y la temperatura sobre la capacidad antioxidante del tomate variedad cherry (Solanum lycopersicum var. cerasiforme)”. [Tesis].Perú: Universidad alas peruanas;2017.[Citado el 3 de noviembre del 2018}.Url disponible en: [http://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/uap/6937/1/T059\\_70077521\\_T.pdf](http://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/uap/6937/1/T059_70077521_T.pdf)
46. Giraldo, A.Papel del estrés oxidativo y nitrosativo en la hipertrofia cardiaca y remodelación ventricular.[Artículo].Colombia: Escuela Ciencias de la Salud, Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín; 2010.[Citado el 3 de noviembre del 2018].Url disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S012024482010000200005](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012024482010000200005)
47. Rabelo L, Nunes V, Sada L, Sampaio W. Desbalance Redox: NADPH Oxidasa como un Objetivo Terapéutico en el Manejo Cardiovascular.[Artículo].Brazil: Centro Universitario de Belo Horizonte; 2010.[Citado el 3 de noviembre del 2018]. Url disponible en: [http://www.scielo.br/pdf/abc/v94n5/es\\_18.pdf](http://www.scielo.br/pdf/abc/v94n5/es_18.pdf)

48. Guerra, E. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. [Artículo].España: Servicio de Medicina Interna del Hospital de Navarra; 2001.[Citado el 3 de noviembre del 2018].Url disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/ami/v18n6/revision1.pdf>
49. Almoacid, F. Evaluación de la variación del contenido de polifenoles en alimentos vegetales, en función del método de conservación empleado. [Tesis].Argentina; Universidad de cuyo, facultad de ciencias agrarias;2016.[Citado el 24 de junio del 2018].Url disponible en: [http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos\\_digitales/7350/tesis-brom.-almonacid-gastn-federico-2016.pdf](http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/7350/tesis-brom.-almonacid-gastn-federico-2016.pdf)
50. Martinez, A.Determinación de Polifenoles Totales, Actividad Antioxidante y Antocianinas de Jugo de Murtilla (*Ugni molinae Turcz*) Obtenido por Condensación de Vapor.[Tesis]. Chile: universidad austral de chile facultad de ciencias agrarias escuela de ingeniería en alimentos;2015.[Citado el 24 de junio del 2018].Url disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2015/fac675d/doc/fac675d.pdf>
51. Mateos, M.Relacion estructura/ actividad de proantocianidinas procedentes de fuentes naturales de origen vegetal.[Tesis].Barcelona: Departamento de química analítica;2013.[Citado el 24 de junio del 2018].Url disponible en: [http://digital.csic.es/bitstream/10261/99216/1/estructura\\_actividad\\_proantocianidinas\\_Mateos.pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/99216/1/estructura_actividad_proantocianidinas_Mateos.pdf)

52. Fajardo, R. Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas de *diplostegium phylloides* (kunth) wedd. [Tesis]. Colombia: Universidad de ciencias aplicadas y ambientales u.d.c.a. facultad de ciencia y tecnología productos naturales u.d.c.a. pronaudca;2016.[Citado el 24 de junio del 2018].Url disponible en: <http://repository.udca.edu.co:8080/jspui/bitstream/11158/591/1/Determinaci%C3%B3n%20de%20actividad%20antioxidante%20Displostephium%20phillyciode.pdf>
53. Pardo, A. “Evaluación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos en la pulpa de la maracuyá (*passiflora edulis*)” [Tesis]. Ecuador: Universidad técnica de machala unidad académica de ciencias químicas y de la salud carrera de ingeniería en alimentos;2015.[Citado el 4 de noviembre del 2018].Url disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/2879/1/CD000015-TRABAJO%20COMPLETO-pdf>
54. Pascualini, D. Consumo de antioxidantes naturales en personas con dislipidemia.[Tesis].Argentina: Universidad abierta interamericana;2012.[Citado el 3 de noviembre del 2018].Url disponible en: <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112329.pdf>
55. Arellano M, Cubas D.“Efecto regenerador del consumo del extracto acuoso de *camellia sinensis* (té verde) en ratas con daño hepático inducido por paracetamol arequipa 2017” [Tesis].Peru: Universidad nacional de san agustín de arequipa facultad de ciencias biológicas escuela profesional de ciencias de la nutrición;2017.[Citado el 4 de noviembre del 2018].Url disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/4670/Nuarcama.pdf?sequence=1>

56. Jurado B, Aparcana I, Villarreal L, Ramos E, Rosario Calixto M, Hurtado P, Acosta K. Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. [Revista]. Perú: Revista social química de Perú; 2016. [Citado el 24 de junio del 2018]. Url disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v82n3/a03v82n3.pdf>
57. Alvarez, M. Caracterización, capacidad antioxidante y perfil fenólico de frutas subtropicales producidas y comercializadas en la costa de Granada-Málaga. [Tesis]. Granada: Programa oficial de posgrado en nutrición y tecnología de los alimentos; 2015. [Citado el 24 de junio del 2018]. Url disponible en: <https://hera.ugr.es/tesisugr/26116698.pdf>
58. Latorre, M. Polifenoles de la uva. [Tesis]. España: Facultad de farmacia universidad Complutense trabajo fin de grado; 2016. [Citado el 24 de junio del 2018]. Url disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MARIA%20LATORRE%20LEAL.pdf>
59. Quiñones, M. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. [Tesis]. España: Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad Complutense, Instituto de Investigación en ciencias de Alimentación; 2012. [Citado el 24 de junio del 2018]. Url disponible en: [http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/09\\_revision\\_08.pdf](http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/09_revision_08.pdf)
60. Paladina, S. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera* L.). [Tesis]. Argentina: Universidad Nacional de Cuyo; Facultad de Ciencias Agrarias – UNCuyo; 2009. [Citado el 24 de junio del 2018]. Url disponible en: [http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos\\_digitales/2627/tesispaladino.pdf](http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/2627/tesispaladino.pdf)



61. Martínez L, Lopez Extracción y cuantificación de compuestos con actividad antioxidante a partir de cascara de tres variedades de papa (*Solanum tuberosum*) en el departamento de Nariño.[Tesis].San Juan de Pasto: Universidad de Nariño.Facultad de Ingeniería Agroindustrial;2013.[Citado el 6 de noviembre del 2018].Url disponible en: <http://biblioteca.udenar.edu.co:8085/atenea/biblioteca/89552.pdf>
62. Quiñones, S.“Caracterización y determinación del contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del fruto de sanche (*Corryocactus brevistylus*)” [Tesis].Perú: Universidad Nacional de Huancavelica Facultad de Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial;2017.[Citado el 6 de noviembre del 2018].Url disponible en: <http://repositorio.unh.edu.pe/bitstream/handle/UNH/1094/TP-UNH.AGROIND%200035.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
63. Martínez, J. “Efecto del procesamiento en el contenido de compuestos fenólicos y las propiedades antioxidantes de diferentes variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) mexicano.[Tesis]. México: Universidad Autónoma del Estado de México; 2013. [Citado el 6 de noviembre del 2018].Url disponible en: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/14379/407988.pdf?sequence=1>
64. Camacho A, Merino M.Estimación del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del café arábica (*Coffea arabica*) orgánico y convencional en el proceso de elaboración de yogur aromatizado con café.[Tesis]. Perú: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC); 2017 [Citado el 6 de noviembre del 2018].Url Disponible en: [https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/623034/Merino\\_GM.pdf?sequence=5](https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/623034/Merino_GM.pdf?sequence=5)

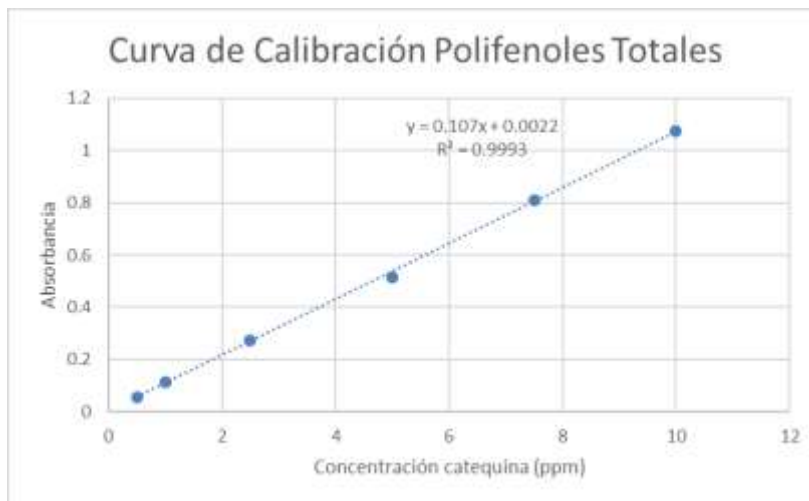
65. Flores, N. Evaluación de la aceptabilidad organoléptica y capacidad antioxidante de una bebida alcohólica no fermentada, formulado con extracto fenólico de mashua (*tropaelum tuberosum*) púrpura. [Tesis]. Peru: Universidad nacional del centro del peru;2015. [Citado el 6 de noviembre del 2018].Url disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/1295/TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
66. Cotrina P, Muños N. Cuantificación de polifenoles totales y capacidad antioxidante de los vinos tintos semi secos de mar, procedentes de cascabelibredad.[Tesis].Perú: Universidad nacional de Trujillo; 2017.[Citado el 6 de noviembre del 2018].Url disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/8946/Palco%20Cotrina%20Alicia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
67. García E, Fernández I, Fuentes A. Cuantificación de polifenoles por el método de FolinCiocalteu.[Articulo].Universidad politécnica de valencia.[Citado el 6 de noviembre del 2018].Url disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%A1nez%20et%20al.pdf?sequence=1>

# ANEXOS

## ANEXO 1

### CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES

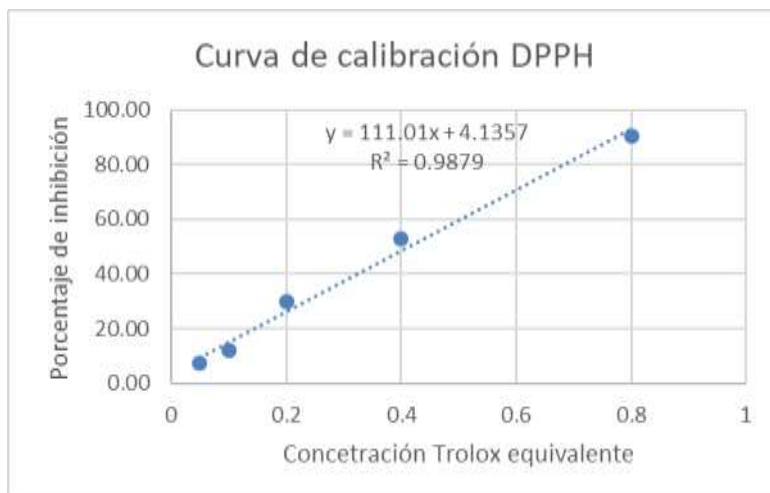
**Grafico 1:** Curva de calibración de polifenoles totales



**Fuente:** Datos propios de la investigación

### ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

**Grafico 2:** Curva de calibración de DPPH (2,2- difenil-1-picrilhidrazilo)



**Fuente:** Datos propios de la investigación

## ANEXO 2

**Figura n° 5:**

**Especie vegetal:** *Genipa americana* L “JAGUA”



### ANEXO 3

**Figura n° 6:** Extracción exhaustiva con metanol al 80% de Frutos de la *Genipa americana* L “JAGUA”



**Figura n° 7:** Muestra de extracción por decocción de Frutos de la *Genipa americana* L “JAGUA”






**Figura n° 8:** Extracción exhaustiva por infusión de Frutos de la *Genipa americana L* “JAGUA”




**Figura n° 9:** Preparación para llevar a espectrofotómetro.



## ANEXO 4

**Herbarium Truxillense (HUT)**  
Universidad Nacional de Trujillo  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



---

Constancia N 69 – 2017- HUT

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

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

División : Angiospermae  
Clase : Dicotyledoneae  
Subclase : Archychlamydeae  
Orden : Gentianales  
Familia : Rubiaceae  
Género : *Genipa*  
Especie : *G. americana* L.

Muestra alcanzada a este despacho por ANNYEL LUCERO JUAREZ AGUILAR, identificada con DNI N° 71041685, con domicilio legal Jr. Pallasca Mz. G Lt. 13 Cambio Puente; estudiante procedente de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Católica los Angeles de Chimbote, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del proyecto para optar el grado de Bachiller, el mismo que lleva por título: "Efecto antiinflamatorio del extracto del fruto de la *Genipa americana* L. "jagua" en ratas en estado inflamatorio agudo".

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

Trujillo, 22 de Julio del 2017

  
JOSE MOSTACERO LEON  
Director del Herbario HUT

cc. Herbario HUT