



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

VICERECTORADO DE INVESTIGACIÓN

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

**CONTENIDO DE POLIFENOLES Y ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS Y FLORES DE
*Tecoma stans L. (Huaranhua)***

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

AUTORA:

SANTOS TORIBIO FLORA

ASESORA:

MGTR. ZEVALLOS ESCOBAR LIZ E.

CHIMBOTE – PERÚ

2018

**CONTENIDO DE POLIFENOLES Y
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS
HOJAS Y FLORES DE *Tecoma stans* L.
(Huaranhua)**

JURADO EVALUADOR DE TRABAJO DE INVESTIGACION

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Walter Teodoro Ramírez Romero

Miembro

Mgtr. Edison Vásquez Corales

Miembro

Mgtr. Liz E. Zevallos Escobar

Tutor

AGRADECIMIENTO

Mi profundo agradecimiento a mi familia que siempre me animaron y apoyaron desinteresadamente en esta carrera desde el inicio hasta ver realizada mis metas.

Así mismo quiero expresar mi sincero agradecimiento al profesor Edison Vázquez y a la profesora Liz Zevallos, quienes me ayudaron durante todo este proceso, con su conocimiento, enseñanza y colaboración permitieron el desarrollo de este trabajo de investigación.

DEDICATORIA

A mi madre que a pesar de la falta que me hizo desde su partida, sus recuerdos han sido mi fuerza para seguir adelante en los momentos difíciles

A las dos personas más importantes de mi vida, mi padre Isidro y a mi sobrino Yancarlos por ser ellos mi motivación más grande de superación, por su amor y apoyo incondicional.

A mis hermanos quienes me enseñaron que con el trabajo y perseverancia se consigue el éxito profesional y hacer que cada sacrificio valiera la pena.

RESUMEN

Los compuestos fenólicos son el grupo más amplio de sustancias que se encuentran en los vegetales y poseen características fisicoquímicas que les permiten participar en distintas reacciones metabólicas celulares de óxido-reducción, las cuales les proporciona propiedades antioxidantes por lo que tiene muchos efectos beneficiosos para la salud. El objetivo de la investigación fue determinar el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante de las hojas y flores de *tecoma stans* L. (huaranhua). Para ello se trabajó con varios métodos de extracción como son la extracción exhaustiva con metanol, decocto e infusión en agua, para la cuantificación de polifenoles se usó el método de *Folin-ciocalteu* y para determinar la capacidad antioxidante se utilizó el ensayo de 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazil (DPPH). Los resultados mostraron la cantidad de polifenoles en hojas y flores de *T. stans* obteniéndose (91.51 ± 6.24 mg de catequina eq /g de muestra seca) y (51.82 ± 1.93 mg de catequina eq /g de muestra seca) respectivamente. Así mismo se mostró una capacidad antioxidante en las hojas y en las flores de *T. stans* de (739.10 ± 6.39 mM Trolox eq. /g de muestra seca) y (311.22 ± 6.83 mM Trolox eq. /g de muestra seca) respectivamente. Se concluye que se determinó el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante en las hojas y flores de *Tecoma stans* L.

Palabras claves: *Tecoma stans* L, Capacidad antioxidante, contenido de polifenoles y DPPH.

ABSTRACT

Phenolic compounds are the largest group of substances found in vegetables and have physicochemical characteristics that allow them to participate in different metabolic reactions of oxidation-reduction cells, which provides antioxidant properties and has many beneficial effects for health. The objective of the research was to determine the content of total polyphenols and the antioxidant activity of the extract of the leaves and flowers of *Tecoma stans* L. (huaranhua). For this, several extraction methods are used, such as exhaustive extraction with methanol, decoction and infusion in water. For the quantification of polyphenols, the Foli-ciocalteu method was used and the 2,2-Diphenyl test was used to determine the antioxidant capacity. 1,1-Dipicrilhidrazil (DPPH). The results showed the amount of polyphenols in leaves and flowers of *T. stans* obtained (91.51 ± 6.24 mg of catechin eq / g of dry sample) and (51.82 ± 1.93 mg of catechin eq / g of dry sample) respectively. Likewise, an antioxidant capacity was shown in the leaves and flowers of *T. stans* of (739.10 ± 6.39 mM Trolox eq. / G dry sample) and (311.22 ± 6.83 mM Trolox eq. / G dry sample) respectively. It is concluded that the content of total polyphenols and antioxidant capacity in the leaves and flowers of *Tecoma stans* L. was determined.

Key words: *Tecoma stans* L, antioxidant capacity, polyphenols content and DPPH

ÍNDICE

	Pág.
JURADO EVALUADOR DE TÉSIS.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
DEDICATORIA.....	v
EPRESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
INDICE DE GRÁFICOS Y TABLAS.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1. Antecedentes.....	4
2.2. Bases teóricas.....	7
III. HIPÓTESIS.....	18
IV. METODOLOGIA.....	19
4.1. Diseño de la investigación.....	19
4.2. Población y muestra.....	21
4.3. Definición y operacionalización de variables.....	22
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	22
4.5. Plan de análisis.....	22
4.6. Matriz de consistencia.....	23
4.7. Principios éticos.....	24
V. RESULTADOS.....	25
5.1. Resultados.....	25
5.2. Análisis de resultado.....	27
VI. CONCLUSIÓN.....	31
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	32
ANEXOS.....	41

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Contenido de polifenoles totales expresado en catequina equivalente (eq.) por gramo de muestra seca de *Tecoma stans* por parte de la planta y tipo de extracto..... 25

TABLA 2: Capacidad antioxidante expresado en mM de trolox equivalente por gramo de muestra seca de *Tecoma stans* por parte de la planta y tipo de extracto..... 26

I. INTRODUCCION

Las plantas siempre han sido un recurso valioso para la humanidad debido a su múltiple uso. Desde esos lejanos tiempos hasta nuestros días hay numerosos estudios de especies de vegetales medicinales, en el contexto de la investigación etnobotánica la medicina tradicional con la medicina científica van vincula a través de estudios de los principios activos y la validación de la actividad terapéutica de las plantas, permitiendo disponer de recursos naturales para el tratamiento de diferentes patologías que afectan comúnmente a la población. (1)

El *Tecoma stans* (huanhua) es una planta ampliamente usada en la medicina tradicional y originaria de México y Sudamérica, en nuestro país tiene una amplia distribución como planta ornamental pero muy poco conocido por sus propiedades medicinales, a pesar de ello en otros países es muy usado para controlar la diabetes gracias a su poder hipoglucemiante de igual forma ayuda combatir dolores, inflamaciones, cáncer, también se le atribuye efectos antidiarreicos, antiespasmódico, cicatrizante, antioxidante.(2)

Una de las actividades terapéuticas estudiadas del *Tecoma stans L.* es la actividad antioxidante teniendo un papel muy importante ya que actúan como agentes protectores de la defensa del nuestro organismo, que son las encargadas de capturar a los radicales libres, que están relacionados con las enfermedades provocadas por el estrés oxidativo. (3)

El estrés oxidativo es la formación de radicales libre a una velocidad y cantidad que supera la capacidad del cuerpo para liberarse de ellos, los radicales libre son aquellas moléculas orgánicas o inorgánicas inestables con un alto poder reactivo, liberados de los procesos normales que realiza nuestro organismo como el catabolismo de los alimentos, la respiración, el ejercicio, por lo tanto, no son completamente dañinos. El daño que provoca a las membranas celulares, mutaciones del ADN, pasa cuan hay un desequilibrio superior a lo normal trayendo consigo enfermedades degenerativas y crónicas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas; y los antioxidantes frente a los radicales libres son un sistema de defensa. (3.4)

Las enfermedades que se destaca, frente a los ataques de estas sustancias es el cáncer que a aumentando a nivel mundial, por esta misma razón el consumo de sustancias hechas con plantas medicinales también se ve incrementado, entonces como ya se mencionó los antioxidantes como la vitamina C, vitamina E, fenoles, flavonoides, polifenoles son una alternativa para su tratamiento (5)

En un país como el nuestro dónde todavía erradica la pobreza, las personas de zonas vulnerables como las comunidades rurales no tienen mucho acceso a los medicamentos ya sea por un factor económico u otros por lo que acuden a las plantas medicinales como una alternativa terapéutica frente a sus distintas enfermedades. Las plantas usadas por estas personas en su mayoría son consumidas solo por conocimientos tradicionales sin una investigación científica que les asegure su fiabilidad, tal es el caso de la planta en estudio (*Tecoma stans*), este vegetal en el Perú no tiene estudios debido a que su uso medicinal no es muy difundido, a pesar que en otros países han despertado un interés por esta especie vegetal sus propiedades farmacológicas porque en el mercado ya existen productos naturales que la contienen. Por lo que el estudio de esta

investigación no solo nos ayudara cuantificar el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante sino también a difundir su uso para esa población que lo necesita. (6)

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

OBJETIVO GENERAL

- Determinar el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de las hojas y flores de *Tecoma stans L.* (huaranhua)

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar el contenido de polifenoles de las hojas y flores de *Tecoma stans L.* (huaranhua) mediante el método Folin–Ciocalteu, expresado en mg catequina eq/g muestra seca
- Determinar la actividad antioxidante de las hojas y flores de *Tecoma stans L.* (huaranhua) por el método DPPH, expresado en mM Trolo eq./g muestra seca.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1.ANTECEDENTES

Se han realizados diversos estudios internacionales de la especie *Tecoma stans* en los países de la India, Cuba, México y Venezuela las que se describe en lo siguiente:

En un estudio realizado en la India durante el año 2017 hacen un estudio para evaluar la actividad antioxidante y citotóxica de los extractos de *Tecoma stans* contra la línea de cáncer de pulmón en comparación de la droga vincristina. Para el estudio de la actividad antioxidante utilizan el método de DPPH estándar y para la actividad citotóxica utilizan el ensayo de MTT donde los resultados del ensayo DPPH muestran que extracto metanólico de *T. stans* en mayor concentración (20 µg/mL) muestra un mejor potencial antioxidante que el estándar Ácido L-ascórbico y la actividad toxotóxica mostró que el aumento de la concentración (100 µg/mL) del extracto aumenta la muerte celular, es decir que alcanzan un 99% de inhibición celular.(7)

Así mismo otro estudio realizado en la India en el 2011 sobre, Composición fitoquímica, actividades antiinflamatorias y analgésicas de *Tecoma stans* Linn. (Bignoniaceae) evalúan los extractos en comparación con la Indometacina donde demuestran que inhibe el edema de la pata de las ratas albinas inducidas con tarragenina de esta forma ponen en evidencia su propiedad antiinflamatoria y analgésica de este vegetal. (8)

Ibarra M. en el año 2009 realizo un estudio para determinación el cromo como factor de tolerancia a la glucosa y una caracterización fitoquímica de hojas de *Tecoma stans*. Donde se evidencio el efecto hipoglucemiante de esta planta en

animales de laboratorio con diabetes inducida; para él, realización un tamizaje fitoquímico pudiendo identificarse alcaloides, camarinas, y sesquiterpenolatonas las cuales fueron administradas por vía oral, para ello se preparó 4 grupos: una de agua, infusión de la planta, picolinato de cromo, infusión combinada con picolinato de cromo. Grupos no diabéticos, utilizaron 45 mg/kg de peso para producir la hiperglucemia. La hiperglucemia disminuyó hasta en un 33,5 % con 30 g/L de *T. stans*, 10,1% con picolinato de cromo y 32,3% con la mezcla de *T. stans* y picolinato de cromo. (9)

En México durante el año 2013 realizan un estudio de los diferentes extractos de hojas y ramas de *T. stans* al cual evaluaron el potencial antibacteriano contra el crecimiento de algunas cepas bacterianas humanas utilizando los métodos de difusión de disco y concentración mínima inhibitoria (MIC) así como la actividad antioxidante mediante el método de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), a la vez evaluaron el contenido total de fenólicos y de flavonoides donde encontraron significativamente una actividad antibacteriano contra bacterias Gram-positivos y Gram-negativos del mismo modo se halló compuestos fenólicos y de flavonoides con una actividad antioxidante considerable. (10)

Rodríguez O. en su estudio realizado en México el 2015 determinó la actividad hipoglucemiante y antioxidante de la planta *Tecoma stans* partir de su extracción asistida por ultrasonido, este autor menciona que el posible efecto se debe a los metabolitos fenólicos encontrados que son inhibidores de α -amilasa puesto que hicieron un análisis in vitro donde se demostró que el extracto etanólico de *Tecoma stans* presenta mayor actividad antioxidante e hipoglucemiante. (11)

En un estudio realizado en Cuba durante el 2003 muestra el efecto hipoglicemiante del extracto fluido de *Tecoma stans Linn* en roedores para ello realizaron una evaluación farmacológica preclínica del extracto fluido de *Tecoma stans Linn* para dos grupos de estudio, conformados con ratones normoglicemicos y otro grupo con hiperglicemia inducida con dexametasona y fueron evaluadas a distintas dosis 50, 100, 250 y 500mg /kg encontrándose el efecto hipoglucemiante con 205 y 500mg para ambos grupos obteniéndose una dosis media efectiva calculada en ratones de 278.8mg/kg siendo un efecto parecido a la glibenclamida. (12)

En un estudio realizado en Cuba durante el año 2002 sobre la Droga cruda y extracto fluido de *Tecoma stans L.* encontraron la presencia de epigenina que son responsables de su propiedad hipoglucemiante, diuréticas, vermífugas, estomacales y antisyfiliticas para ello realizaron el tamizaje fitoquímico de la especie *Tecoma stans L.*, tanto para la planta seca como fresca. Posteriormente estandarizaron la droga cruda; y a partir de ella se elaboraron un extracto fluido por percolación con etanol al 70 % el cual también fue estandarizado. También realizaron la identificación de los flavonoides presentes en la droga y el extracto por cromatografía en capa delgada, y encontraron en ambos casos, según el patrón empleado, la presencia de apigenina. (13)

En el año 2017 Villarreal S. *et al.* Realizaron un estudio que tuvo como objetivo investigar la actividad antibacteriana y antioxidante de especies pertenecientes a la familia Bignoniaceae, entre estas las especies *Spathodea campanulata Beauv.*, *Podranea ricasoliana* (Tanfani) Sprague, *Tecoma stans* (Linn.) y *Jacaranda mimosifolia D.* Encontrando como resultado de las cuatro especies vegetales estudiadas en el extracto de las flores de *S. campanulata* que presentó actividad

frente a *Staphylococcus aureus* a una concentración de 0,5 g/mL usando el método de Kirby-Bauer, así mismo del extracto de las flores se identificaron flavonoides usando el revelador NEU además se evaluó la actividad antioxidante usando el método DPPH y el extracto de diclorometano de las flores de la *S. campanulata* reveló una buena actividad antioxidante con una CI50 de 940 µg/mL. (14)

2.2 BASES TEORICAS

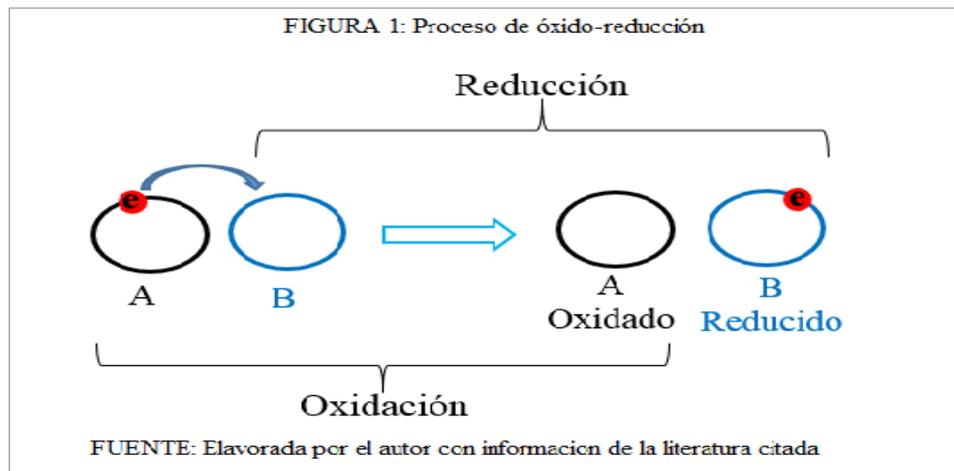
2.2.1 ANTIOXIDANTES

2.2.1.1. Concepto

Un antioxidante es cualquier molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación, es decir la pérdida de uno o más electrones de otras moléculas, generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos de tal forma mantener las funciones fisiológicas normales del cuerpo humano. La oxidación de tales moléculas podrá ser iniciada por dos tipos de especies reactivas: los radicales libres, y aquellas especies que sin ser radicales libres, son suficientemente reactivas para inducir la oxidación de moléculas como los mencionados. Los antioxidantes no sólo deben estudiarse por sus interacciones químico/ biológico, sino por su función en el deterioro oxidativo que afecta a los alimentos porque también se utilizan en la industria alimentaria como aditivos para retrasar los procesos de oxidación, en tanto previenen el comienzo de la rancidez oxidativa. (15)

2.2.1.2 Proceso de oxidación

La función antioxidante se encuentra asociado al proceso de óxido-reducción que remite a dos momentos básicos: primero la oxidación que implica pérdida de electrones de hidrógeno con la ganancia de oxígeno en la molécula y segundo la reducción que significa ganancia de electrones de hidrógeno con la pérdida de oxígeno. De modo que el oxidante se reduce al reaccionar con aquella molécula que oxida. Este proceso químico sucede de forma cotidiana en el organismo humano y representa el conocido par óxido-reductor o balance redóx. (16)



2.2.1.3 Radicales libres

Desde el punto de vista químico, un radical libre es cualquier átomo, molécula o ión, uno o varias que contenga al menos un electrón desapareado o libre en su orbital más externo, así mismo capaz de existir en forma independiente, por la misma razón son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido captar el electrón que necesita, la molécula estable que le cede su electrón se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un

electrón desapareado, iniciándose una reacción en cadena con moléculas aledañas. La vida media biológica del radical libre es de microsegundos y puede afectar un millón de moléculas, membranas celulares y tejidos durante la reacción en cadena. Los compuestos en cuestión forman parte de los llamados especies reactivas del oxígeno (ERO). (17)

Los radicales libres se liberan durante los procesos fisiológicos propios del organismo tales como el metabolismo de los alimentos, en la respiración, con la actividad física y también son generados por factores ambientales (atmosféricos, acuáticos, de suelos), radiaciones (ultravioleta, gamma, hertziana), por consumo de medicamentos, tabaquismo y/o aditivos de alimentos y hasta por una inadecuada alimentación. (15,17)

Los radicales libres no son intrínsecamente deletéreos; de hecho juegan un papel clave en la homeostasis, como el caso de los neutrófilos, macrófagos, monocitos, eosinófilos y fibroblastos los produce radicales libres en cantidades moderadas y utilizan para luchar contra bacterias y virus. Otro caso es el superóxido (O_2^-) sintetizada por la oxidasa NADH controla la producción de eritropoyetina que participa en el control de la ventilación, en la relación del músculo liso y en la transducción de señales de varios receptores de la membrana celular que activan numerosas funciones; por lo que mantiene la homeostasis redox, el problema para la salud se produce cuando nuestro organismo tiene que soportar un exceso de radicales libres perdiendo el equilibrio homeostático. (18)

2.2.1.4 Especies reactivas del oxígeno (ERO)

Es un término que se aplica para referirse a un conjunto de moléculas producidas por la presencia del oxígeno molecular (O_2), este es uno de los gases más importantes de la Tierra, constituye el 21% de la atmósfera, 89% del peso del agua de mar y al menos 47% de la corteza terrestre. Por lo mismo, la mayor parte de los seres vivos utilizamos el oxígeno para respirar y obtener energía, en condiciones normales, las células metabolizan la mayor parte del O_2 a través de la formación de agua, mientras que un pequeño porcentaje forman intermediarios altamente tóxicos debido a que es sumamente oxidante y partir de ellas se forman moléculas más reactivas conocidas como especies reactivas de oxígeno (EROs), como el superóxido (O_2^-), el hidroxilo (OH) y el peróxido de hidrógeno, así como los oxiradicales (O_2 singulete y doblete). (19)

Principales especies reactivas

a. Anión superóxido:

Es el radical más común y abundante a nivel celular, principalmente se forma en la cadena de transporte de electrones y en la fagocitosis para ser usados como defensa contra la agresión bacteriana. Es generada en reacciones de autooxidación enzimática en diferentes organelos celulares. Como en el retículo endoplásmico. A través del citocromo P450 y de la flavoproteína NADPH – citocromo P450 reductasa, en el citosol por acción de la enzima xantina oxidasa. Dentro de las sustancias que se oxidan y permiten la generación de radical superóxido se encuentran; la hemoglobina, mioglobina y catecolaminas. (20)

b. Peróxido de hidrógeno (H₂O₂):

No es un radical libre, pero es una forma reactiva de gran importancia, porque posee la capacidad de generar el radical hidroxilo cuando se encuentra en presencia de metales como el hierro. Generalmente se forma en la matriz mitocondrial, al realizar la reducción parcial de oxígeno o en la dismutación del radical superóxido por la enzima superóxido dismutasa, pero también se puede formar en el Peroxisomas en este organelo se encuentran diferentes proteínas que pueden dar origen al peróxido de hidrogeno como lo son: el urato oxidasa, la 1- α -hidroxiácido oxidasa y la D-aminoácido oxidasa. Además, algunos microorganismos como bacterias y micoplasmas liberan H₂O₂, el cual por su capacidad de atravesar membranas biológicas puede causar daño en el huésped celular. (21)

c. Radical hidroxilo

Estos EROs poseen una alta reactividad por tanto tiene una capacidad superior de causar daño celular debido a que las células no cuentan con un sistema enzimático antioxidante contra este radical, esto es inversamente proporcional a su vida media. La formación de esta especie reactiva es a nivel celular se da por varios mecanismos, dentro de los cuales se encuentra; la radiolisis del agua que contiene la célula cuando esta es expuesta a radiaciones ionizantes como los rayos X y los rayos gamma. (22)

d. *Oxígeno Singlete (O₂ I)*

El ERO singlete es producida en diferentes procesos, como; la fagocitosis, inducción luminosa, reacciones catalizadas por peroxidadas, entre otras. Es capaz de modificar diferentes biomoléculas como el DNA y causar daños en las proteínas a través de la oxidación de ciertos grupos esenciales de aminoácidos entre los cuales se encuentran; histidina, triptófano, metionina, y residuos de cisteína. De igual forma, da inicio a la lipoperoxidación generando radicales como el alcoxilo (RO[•]) y peroxilo (ROO[•]). (21)

Lesiones por especies reactivas de oxígeno

a) Peroxidación lipídica: Es un mecanismo que se refiere a la degradación oxidativa de los lípidos es decir proceso por el cual los radicales libres capturan electrones de los lípidos, a hora bien; todas las células están rodeadas por una membrana biológica que las separa del medio extracelular que está formada principalmente por lípidos (bicapa lipídica) la que funciona como una barrera de permeabilidad selectiva por lo tanto son ricas en ácidos grasos poliinsaturados que por lo mismo son vulnerables al ataque de radicales libres que traen como consecuencia la peroxidación lipídica. Esta es generalmente inducida por un radical hidroxilo que extrae un hidrógeno a la cadena lateral de un ácido graso formando un radical carbonado, lo que genera una cadena de reacciones oxidativas. (17, 23)

b) Alteraciones del ADN: El ADN es uno de las moléculas blancos principales del ataque por los EROs en la célula y las modificaciones que sufre como consecuencia de esos ataques conllevan a un desequilibrio homeostático celular, pérdida que puede

prolongarse a alteraciones de las funciones del ADN como reservorio activo de información. producto de ello se produce enfermedades de gran morbilidad y mortalidad como el cáncer. (21, 22)

El ADN sufre diferentes tipos de daño oxidativo, se reportan los siguientes: Modificación de las bases de ADN, Generación de sitios AP, Ruptura de una cadena del ADN, mutaciones, activación de oncogenes e inactivación de genes supresores, daño endotelial que favorece la metástasis. (18)

2.2.1.5 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es una denominación asociado al deterioro de las células por acción de un radical libre que le afecta, así en condiciones normales se da un equilibrio entre la producción de especies reactivas y/o radicales libres con los mecanismos antioxidantes exógeno y endógeno. Este equilibrio permite que la toxicidad por oxidación sea menor y por ende un menor daño celular. Cuando se rompe el equilibrio, éste se podrá asociar con un déficit en el sistema antioxidante o por la proliferación descontrolada de las ERO. (16, 17)

Cuando el aumento del contenido intracelular de especies reactivas del oxígeno sobrepasa las defensas antioxidantes de la célula se produce el estrés oxidativo, a través del cual se induce daño a moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. El estrés oxidativo se expresa en diversos estados patológicos en los cuales se altera la función normal de las células, contribuyendo o retroalimentando el desarrollo de enfermedades degenerativas como la aterosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas y cáncer (17)

2.2.1.6 Sistema de defensa antioxidante celular

Los antioxidantes son las moléculas de defensa del organismo frente a los radicales libres, capacidad dada por mecanismos a través de los cuales la célula inhibe o anula la reactividad que generación los radicales libres.

Los antioxidantes según su función se clasifican en primarios, secundarios y terciarios y según su origen pueden clasificarse como exógenos y endógenos. Los antioxidantes primarios se podrían llamar también de primera línea, ellos previenen la formación de nuevos ERO por ejemplo el superóxido dismutasa elimina el radical superóxido, el glutatión peroxidasa elimina los hidroperóxidos; los secundarios evitan la reacción en cadena como la vitamina E, C, ácido úrico y los terciarios reparan las biomoléculas dañadas. Por otro lado, por su origen los antioxidantes endógenos son los que se sintetizan en el organismo y los exógenos son ingeridos a través de la dieta. (24)

2.2.1.7. Principales antioxidantes exógenos

Como ya se dijo los antioxidantes exógenos pueden ser adquiridos a través de la ingesta de los alimentos y una de las fuentes principales son los vegetales por lo que producen un sin número de compuestos antioxidantes que incluyen los flavonoides, ácido ascórbico (vit. C), carotenos, polifenoles, etc.

Vitamina C: Es una molécula altamente soluble en agua y principal antioxidante que actúa como primera defensa de los radicales libres en sangre y plasma, además es un importante cofactor. (25)

Vitamina E: Es una vitamina lipofílica, de la familia de los tocoferoles. Su forma biológicamente activa es el D – alfa tocoferol, cuyo hidroxilo fenólico en el anillo de cromano es el responsable de la reducción antioxidante, es así que inhibe la peroxidación de los ácidos grasos (26)

Los polifenoles: Los compuestos polifenólicos, son los antioxidantes más abundantes de la dieta, cumplen esta acción gracias a su propiedad quelante de metales de transición y su acción atrapadora de ERO. Son sustancias dentro de las que se destacan las antocianinas, flavonoides, vitaminas y entre otros, (4)

Además de participar en la función fisiológica de los vegetales, también son componentes importantes de la dieta humana, aunque no son considerados como nutrientes. Son objeto frecuente de investigación debido a sus diversas funciones como lo es la asimilación de nutrientes, síntesis proteica, actividad enzimática y son reconocidos por su remarcada capacidad antioxidante y su utilidad en diferentes enfermedades como cáncer, cardiopatías, Parkinson, Enfermedad de Alzheimer, enfermedades neurodegenerativas debido al estrés oxidativo. (33)

Método para la cuantificación de compuestos fenólicos:

Se utiliza el método de *Folin – Ciocalteu* el ensayo sirve como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Basado en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible a la detección espectrofotométrica a 765nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos

fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico formado por las dos sales en el medio ácido de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que se mide para evaluar el contenido en polifenoles. (27)

2.2.2. MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE:

Existen múltiples métodos cromógenos como: el ABTS, DPPH, DMPD, DMPO y FRAP, que son utilizados para la determinación de la capacidad de los compuestos fenólicos, que contienen los frutos, hojas, tallos, semillas, etc de una planta, que tienden a captar los radicales libres generados. Los métodos más utilizados son: ABTS y DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil). (28)

Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil).

Este método emplea el radical DPPH, que es más estable en el tiempo, debido a la deslocalización del electrón libre, de modo que las moléculas no dimerizan, como sería el caso de la mayoría de los otros radicales libres empelados en otros ensayos. La deslocalización también da lugar al color violeta oscuro. Cuando una solución de DPPH se mezcla con la sustancia que puede donar un electrón da lugar a la forma reducida con la pérdida de este color violeta cambiando a un color amarillo pálido. Con este método se mide la captación de este radical a través de la disminución de la absorbancia medida a 515 nm, que se produce por reducción de un antioxidante. (29)

2.2.3. *Tecoma stans* L. (huaranhua)

Las características taxonómicas de la especie vegetal son: Reino: Plantae, División: Magnoliophyta, Clase: Magnolipsida, Orden: Lamiales, Familia: Bigoniaceae, Género: *Tecoma*, Especie: *stans*

Nombres comunes:

Los nombre comunes o verniculares son llamadas de distintas formas tales como: San Andrés, candadillo, copete, machete, etc. (Centro América); ruiborba, saulo amarillo en (Puerto Rico); fresnillo (Venezuela); aranguaney bobo, chirlobirlo (Colombia); huaranhua (Perú); tronador, timboco, flor amarilla (México); etc (30)

Descripción botánica:

Forma: Árbol de unos 7 a 20 m de altura, con un diámetro de 10 a 40 cm. **Copa / Hojas:** Hojas compuestas, opuestas e imparipinnadas, copa globosa a piramidal, ramas largas y delgadas. **Corteza:** Corteza dura y acostillada. **Flor(es):** Inflorescencia en racimo terminal o subterminal, con 20 flores aproximadamente, Las flores son muy vistosas, pero débilmente fragantes. **Fruto(s):** Fruto una cápsula alargada, cilíndrica y dehiscente, de unos 10 a 25cm de largo y 4.5 de diámetro color verde y se abre en dos partes. **Semilla(s):** Semillas pequeñas, aplanadas y aladas **Sexualidad:** Hermafrodita. (11)

Uso terapéutico de *Tecoma stans* L. (Huaranhua)

Tecoma stans (Huaranhua) además de ser una planta medicinal también es una especie ornamental que esta expandido como decoraciones de calles y parques de muchas ciudades. Este vegetal se cultiva en América del Norte y Asia Oriental y

silvestremente está distribuida en países tropicales y subtropicales. *T. stans* no es una planta tóxica Porque se usa en América Latina como remedio para diabetes y, además, para la alimentación de ganado vacuno y caprino. (10)

En México y América Central son ampliamente empleados en la medicina tradicional para el control de la diabetes y el trastorno urinario. Además, las flores y las cortezas se utilizan tradicionalmente para el tratamiento de diversos cánceres, así como antimicrobianos inhibición contra el hongo y problemas digestivos. (12)

Además (**Rodríguez O**) en una encuesta bibliográfica revela el *T. stans* posee diversos compuestos bioactivos en las hojas de la planta tales como los alcaloides monoterpénicos, actidina, boschniakina, tecomanina, tecostatina y tecostidina; los alcaloides como, indol, eskatol y triptamina, los monoterpenos, aucubin, plantarenalósido, stanside, stansioside, alfa-stansioside, beta-stansioside y 5-deoxistansioside, los componentes benzílicos ácidos cafeíco, paracumárico y ferúlico y el flavonoide ácido siríngico. En las flores se han identificado dos flavonoides, el glucósido, y el rutinósido, de cianidín. Las que le confieren diversas actividades farmacológicas como el antioxidante, depurativo, diurético, antiinflamatorio y otros más. (11)

III. HIPOTESIS

Hipótesis implícita.

IV. METODOLOGÍA.

4.1. Diseño de la investigación

El presente trabajo de investigación corresponde a un estudio de tipo descriptivo, con un nivel de orientación cuantitativo.

4.1.1 Obtención de la droga vegetal

El vegetal fue recolectado en óptimo estado de desarrollo vegetativo durante el mes de marzo y junio en el distrito de Mangas de la provincia de Bolognesi del departamento de Ancash, ubicada a fronteras de la provincia de Cajatambo al suroeste del departamento de Lima.

El estudio se realizó con las hojas y flores del vegetal. Estas fueron secadas en estufa a 30° C durante 8 horas, posteriormente pulverizadas y almacenadas hasta la fecha del ensayo.

4.1.2 Preparación del extracto metanólico (CH₃OH 80%) por extracción exhaustiva

Para obtener los extractos se utilizó 0.2510g de las flores y 0.2573g de hojas secas y pulverizadas, esta se añadió a un tubo (envuelto con una capa de aluminio) mas 15 mL de metanol al 80% luego se coloca sobre el agitador magnético durante 30 minutos, posterior a ello se centrifuga a 6000 rpm (revoluciones) durante 5 minutos y el sobrenadante se separa y se coloca en una fiola de 50 mL (envuelto con una capa de aluminio), el proceso se repitió por tres veces para la muestra de flores y hojas respectivamente, finalmente se lleva a volumen con el solvente y se guarda en el congelador hasta el momento del análisis respectivo.

4.1.3 Preparación de la muestra por infusión:

En un vaso de precipitación se agrega 200 mL de agua tipo-II esta se lleva a calor hasta su ebullición luego se retira y se agrega 1.5 gramos aproximadamente de cada muestra seca y pulverizada posteriormente se cubre con papel aluminio y se deja en reposo durante 15 minutos, el proceso se realizó para ambas muestras. Finalmente se filtra y se deja enfriar para su posterior análisis.

4.1.4 Preparación de la muestra seca en decocción:

En un vaso de precipitación se añadió 200 mL de agua hirviendo tipo-II más 1.01g de hojas y 0.99g de flores de las muestras respectivamente y se somete a ebullición durante 15 minutos se cubre con papel aluminio, después de este tiempo se filtra y se deja enfriar para su posterior análisis.

4.1.5 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 1450 μ L 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 le agregó 50 μ L del extracto de hojas y flores respectivamente y se dejó por 15 minutos en oscuridad para que reaccione, 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 0.5, 1.0, 2.5, 5, 7.5 y 10 mM, para obtener la curva de calibración. (30)

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

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{DPPH } t_0 - \text{DPPH } t_{15}}{\text{DPPH } t_0} \times 100$$

4.1.6 Determinación de polifenoles totales por 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; 7.5 y 10ppm (mg/L) para obtener la curva de calibración, a las demás fiolas se adicionó 50 µL de extracto metanólico al 80%, 50µl de infusión y 50 µL de la decocción respectivamente a cada fiola. Posteriormente se agregó 500 µL de Folin-Ciocalteu y se dejó reposar por 5 minutos en oscuridad. Transcurrido este tiempo se agregó 2 ml de carbonato de sodio al 10%, seguidamente se aforó con agua tipo-II e inmediatamente se llevó a oscuridad por 90 minutos, El análisis se realizó por triplicado para cada una de las muestras. Finalmente se realizó la lectura en el espectrofotómetro ÚNICO 2800 UV/Vis a una longitud de onda de 700 nanómetros.

4.2 Población y muestra

Población vegetal: Conjunto de hojas y flores de *Tecoma stans* recolectados en el distrito de Mangas de la provincia de Bolognesi del departamento de Ancash, ubicada a fronteras de la provincia de Cajatambo al suroeste del departamento de Lima

Muestra vegetal: 500 g de hojas y 500 g de flores de *Tecoma stans* en buen estado vegetativo

4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
Capacidad antioxidante de los extractos de las hojas y flores de la planta <i>T. stans</i>	Sustancia que al encontrarse con un sustrato oxidable, esta retarda la oxidación de la misma.	Capacidad de secuestro y/o inhibición de radicales libres. (DPPH)	mM trolox eq./g muestra
Contenido de Polifenoles de hojas y flores de la planta <i>T. stans</i>	Son un grupo de sustancias heterogéneas que comparten uno o más grupos fenol por molécula, una característica común en su estructura molecular	. Folin-ciocalteu	mg catequina eq./g muestra seca

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se evaluó tomando como dato el valor de absorbancia medida en el espectrofotómetro y observación directa. Los datos obtenidos fueron registrados en fichas de recolección de datos

4.5. Plan de análisis.

Los resultados se presentaron con datos de medida de tendencia central: promedio, desviación estándar, en Microsoft Excel. Regresión lineal para la calibración del patrón.

4.6. Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS:	HIPOTESIS	VARIABLES	TIPO DE INVESTIGACIÓN	METODOLOGÍA
<p>Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de las hojas y flores de <i>Tecoma stans L.</i> (Huaranhua)</p>	<p>¿Las hojas y flores de <i>Tecoma stans L.</i> (Huaranhua) tendrá contenido de polifenoles y capacidad antioxidante?</p>	<p>Objetivo general: Determinar el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de las hojas y flores de <i>Tecoma stans L.</i> (Huaranhua)</p> <p>Objetivos específicos:</p> <p>Determinar el contenido de polifenoles de las hojas y flores de <i>Tecoma stans L.</i> (huaranhua) expresado en mg de catequina eq./g muestra seca.</p> <p>Determinar el contenido la actividad antioxidante de las hojas y flores de <i>Tecoma stans L.</i> (huaranhua) expresado en mM de Trolox eq. /g muestra seca.</p>	<p>Implícita</p>	<p>Actividad antioxidante de las hojas y flores de <i>Tecoma stans L.</i> (Huaranhua).</p> <p>Contenido de polifenoles en las hojas y flores de <i>Tecoma stans L.</i> (Huaranhua).</p>	<p>Descriptivo</p>	<p>Diseño de Investigación:</p> <p>-Determinación de polifenoles por el método de Folin-Ciocalteu</p> <p>-Determinación de capacidad antioxidante por el método de DPPH.</p>

4.7. Principios éticos

Teniendo en cuenta la Declaración de Helsinki, se promoverá la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso de las plantas medicinales, no solo para preservar su legado cultural, sino también para registrar información relevante y demostrar científicamente sus efectos terapéuticos que servirán como nuevas fuentes de medicamentos y otros beneficios para la humanidad. En el caso del manejo de animales de experimentación se realizará con respeto de su bienestar de acuerdo a los propósitos de la investigación, promoviendo su adecuada utilización y evitándoles sufrimiento innecesario.

V. RESULTADOS

5.1.Resultados

Tabla 1: Contenido de polifenoles totales expresado en catequina equivalente por gramo de muestra seca de *Tecoma stans* por parte de la planta y tipo de extracto.

Muestra	Partes de la planta	Tipo de extracto	Polifenoles totales (mg de catequina eq./g de muestra seca)
<i>Tecoma stans</i>	Hojas	Exhaustiva (Metanol 80%)	72.91 ± 8.84
<i>Tecoma stans</i>	Hojas	Infusión	69.30 ± 5.09
<i>Tecoma stans</i>	Hojas	Decocción	91.51 ± 6.24
<i>Tecoma stans</i>	Flores	Exhaustiva (Metanol 80%)	40.07 ± 2.10
<i>Tecoma stans</i>	Flores	Infusión	34.05 ± 1.69
<i>Tecoma stans</i>	Flores	Decocción	51.82 ± 1.93

Fuente: Datos propios de la investigación

Tabla 2: Capacidad antioxidante expresado en mM de trolox equivalente por gramo de muestra seca de *Tecoma stans* por parte de la planta y tipo de extracto.

Muestra	Partes de la planta	Tipo de extracto	DPPH (mM Trolox Eq./1 g muestra seca)
<i>Tecoma stans</i>	Hojas	Exhaustiva (Metanol 80%)	617.37 ± 5.72
<i>Tecoma stans</i>	Hojas	Infusión	534.07 ± 0.56
<i>Tecoma stans</i>	Hojas	Decocción	739.10 ± 6.39
<i>Tecoma stans</i>	Flores	Exhaustiva (Metanol 80%)	241.51 ± 0.53
<i>Tecoma stans</i>	Flores	Infusión	139.50 ± 11.33
<i>Tecoma stans</i>	Flores	Decocción	311.22 ± 6.83

Fuente: Datos propios de la investigación

5.2. Análisis de resultados

La determinación de polifenoles es un estudio muy común en investigaciones terapéuticas de vegetales, por que recientemente se ha reconocido que la salud se origina a partir de la actividad antioxidante de los polifenoles naturales, un constituyente esencial de los productos vegetales. En esta investigación se determinó el contenido total de polifenoles a través del ensayo de *Folin-Ciocalteu*. Este es uno de los más antiguos métodos y mundialmente diseñados para la determinación de compuestos polifenólicos, aunque no es selectiva, ya que determina tanto polifenoles y monofenólicos, aun así, los reactivos utilizados son idénticos en todos los casos. (31)

Este método está basado en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes del reactivo folin-ciocalteu que está compuesto por molibdato y tungstato sódico que reaccionan formando complejos de fosfomolibdico-fosfotúngstico. La cual en PH básico hace transferencia de electrones y se reduce los complejos en óxidos, cromógenos de color azul intenso de tungsteno y molibdeno, el color es proporcional al número de grupos hidroxilo encontrados en la molécula. (32)

El contenido de polifenoles totales presentes en las hojas de *Tecama stans* se muestra en la tabla 1, encontrándose 91.51 ± 6.24 /mg de catequina eq. /g de muestra seca en el extracto de decocto, 72.91 ± 8.84 /mg de catequina eq. /g de muestra seca en el extracto MeOH 80% y 69.30 ± 5.09 /mg de catequina eq. /g de muestra seca en el extracto de infusión. Además, en la tabla 1 se muestra el contenido de polifenoles totales presentes en las flores de *Tecama stans*, obteniéndose 51.82 ± 1.93 /mg de catequina eq. /g de muestra seca en el extracto de decocto, 40.07 ± 2.10 /mg de

catequina eq. /g de muestra seca en el extracto de MeOH 80% y 34.05 ± 1.69 /mg de catequina eq. /g de muestra seca del extracto de infusión.

Los resultados se comparan con otra investigación realizada en las hojas de *Tecoma stans*, donde prepararon disoluciones con solventes de distinta polaridad (agua y etanol), realizando la extracción vía ultrasónica y liofilizadas, finalmente cuantificaron el contenido de polifenoles totales obteniéndose 204.82 mg EAG/g ES en el extracto etanólico y (120 mg EAG/g ES) en el extracto acuoso. (11)

En otro estudio que realizaron Salem *et al* (10) sobre la cuantificación de polifenoles encontraron (50.3 ± 3 mg GAE/g extracto) en el extracto metanólico de las hojas de *Tecoma stans* y (25.33 ± 0.57 mg GAE/g extracto) en el extracto acuoso de las hojas de *Tecoma stans*. En estos estudios claramente nos podemos dar cuenta que la concentración de polifenoles totales en la especie vegetal puede variar ya que el contenido de polifenoles en las plantas puede estar influenciado por las condiciones ambientales, grado de madurez, composición del suelo, ubicación geográfica y condiciones de almacenamiento. (33)

Para determinar la capacidad antioxidante se usó el método de DPPH, este es el método indirecto más antiguo. La prueba se basa en la capacidad de radicales libres estables 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo para reaccionar con donadores de H incluyendo compuestos fenólicos. (31)

La capacidad antioxidante de las hojas de *Tecoma stans* se muestra en la Tabla 2 obteniéndose (739.10 ± 6.39 /mM Trolox Eq. /g muestra seca) en el extracto por decocción, (617.37 ± 5.72 /mM Trolox Eq. /g muestra seca) en el extracto MeOH 80% y (534.07 ± 0.56 /mM Trolox Eq. /g muestra seca) en el extracto de la infusión. Así

mismo la capacidad antioxidante de las flores de *Tecoma stans* se muestra en la Tabla 2 obteniéndose ($311.22 \pm 6.83/\text{mM Trolox Eq. /g muestra seca}$) en el extracto por decocción, ($241.51 \pm 0.53/\text{mM Trolox Eq. /g muestra seca}$) en el extracto MeOH 80% y ($139.50 \pm 11.33/\text{mM Trolox Eq. /g muestra seca}$) en el extracto de infusión.

A esto se le compara con otra investigación que realizaron Salem *et al.* (10) para determinar la capacidad antioxidante de las hojas de *Tecoma stans* y obtienen 74.16 ± 0.85 % de actividad antioxidante total en el extracto metanólico y 35.74 ± 0.12 % actividad antioxidante total en el extracto acuoso. Una vez más se observa la diferencia de la capacidad inhibitoria en los estudios. Esto posiblemente se deba a la influencia de los metabolitos secundarios porque ellos son los que permiten interacciones ecológicas de la planta con su entorno por lo tanto el ambiente donde se desarrolla el vegetal es un factor principal para que varíe su contenido de metabolitos. (34)

Comparando ambas tablas de los resultados obtenidos afirmamos tanto para los polifenoles totales y capacidad antioxidante, son las hojas de *Tecoma stans* las que tienen mayor cantidad de polifenoles y capacidad de inhibición a diferencia de las flores y también se evidencia el extracto donde se conserva y/o retiene más estas moléculas es en la cocción de ambas muestras a pesar de que los estudios evidenciados muestran lo contrario. Esto se justifica con una investigación que se realiza sobre “El efecto de los métodos de cocción sobre los fenólicos totales y actividad antioxidante de vegetales verdes seleccionados”, donde el efecto de varios métodos de cocción en total, los fenólicos fueron significativos ($p < 0.05$) para pimienta, guisantes y brócoli. Después de cocinar, la actividad antioxidante total

aumentó o se mantuvo sin cambios dependiendo del tipo de verdura y del tipo de cocción. (35)

De manera íntegra, los resultados obtenidos apoyan aún más la opinión de algunos estudios realizados que son fuentes prometedoras de antioxidantes naturales

VI. CONCLUSIÓN

- Se determinó el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante en las hojas y flores de *Tecoma stans* L., obteniéndose concentraciones considerables tanto en el extracto metanólico como en la decocción e infusión
- Se determinó el contenido de polifenoles totales en el extracto de las hojas y flores de *Tecoma stans*, obteniéndose 91.51 ± 6.24 /mg de catequina Eq./g de muestra seca en las hojas y 51.82 ± 1.93 /mg de catequina Eq./g de muestra seca en las flores.
- Se determinó que el extracto de las hojas y flores de *Tecoma stans* L. tiene capacidad antioxidante donde se encontró (739.10 ± 6.39 /mM Trolox Eq./g muestra seca) en las hojas y (311.22 ± 6.83 /mM Trolox Eq. /g muestra seca) en las flores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mejía K, y Rengifo E. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana. 2da Edición. Perú: Enrique ULDEMOLINS. 2000. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/L017.pdf>
2. Olivas M. Plantas medicinales de la ciudad de Chihuahua [libro electrónico]. México: Universidad autónoma de la ciudad de Juárez; 1999 [consultado 11 de mayo 2018]. disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=rIteOo_CNIAC&pg=PA103&dq=TECOMA+STANS&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwizvtv8j9HaAhVR0IMKHdxhBDQQ6AEIPDAE#v=onepage&q=TECOMA%20STANS&f=false
3. Olivera G. capacidad antioxidante de *averrhoa carambola l.* (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres” [tesis]. Lima. universidad nacional mayor de san marcos facultad de medicina; 2014. disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3943/oliveira_bg.pdf?sequence=1
4. Barreda 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]. Bogotá. Pontificia Universidad Javeriana. 2011. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8850/tesis793.pdf?sequence=1>

5. Bautista L. Contribución al estudio de flavonoides en hojas y determinación de la actividad antioxidante en *Chromolaena tacotana*.. [Tesis]. Colombia: Universidad de ciencias aplicadas ambientales. 2017. Disponible en: <http://repository.udca.edu.co:8080/jspui/bitstream/11158/720/1/tesis%20C.tacotana%2031-08-2017.pdf>
6. López A, Ramírez F, Ramírez S, Trejo G. Acumulación de compuestos antioxidantes en callos de *Tecoma stans* L (copa de oro) y análisis químico preliminar. En libro de ponencias: V congreso internacional de ingeniería bioquímica; México, 2008. disponible en: https://scholar.google.com.pe/scholar?um=1&ie=UTF-8&lr&q=related:S2y_dLoe4UGuRM:scholar.google.com/
7. Jayachandran R, Kumaresan S, Ramasamy S, Ponnusamy P. Antioxidant and cytotoxic activity of *Tecoma stans* against lung cancer cell line (A549). Braz. J. Pharm. Sci. [Internet]. 2017 [cited 2018 Apr 29]; 53(3): e00204. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/bjps/v53n3/2175-9790-bjps-53-03-e00204.pdf>

8. Dash S, Das C, Sahoo D, Sahoo A. Phytochemical Composition, Anti-inflammatory and Analgesic Activities of *Tecoma stans* Linn. (Bignoniaceae). Gayathri Teknological Publication [Revista on line]. 2011 [cited 2018 may 25]; 1(2):5-8. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Sujit_Dash6/publication/319911058_Phytochemical_Composition_Antiinflamatory_and_Analgesic_Activities_of_Tecoma_stans_Linn_Bignoniaceae/links/59c1357fa6fdcc69b92bbb4c/Phytochemical-Composition-Anti-inflamatory-and-Analgesic-Activities-of-Tecoma-stans-Linn-Bignoniaceae.pdf
9. Ibarra M. Efecto hipoglucemiante de *Tecoma stans* Y *Eriobotrya japonica* y su relación con la presencia del cromo como factor de tolerancia a la glucosa. [Tesis]. México: Universidad autónoma de nuevo león facultad de ciencias biológicas. 2009. Disponible en: <http://cdigital.dgb.uanl.mx/te/1080179492.PDF>
10. Salem M, Gohar Y, Camacho L, Shanhorey N, Salem A. Antioxidant and antibacterial activities of leaves and branches extracts of *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth against nine species of pathogenic bacteria. African Journal of Microbiology Research [Revista on line]. 2013 [cited 2018 may 25]; Vol. 7(5), pp. 418-426. Available from: <http://www.academicjournals.org/journal/AJMR/article-full-text-pdf/309334918299>

11. Rodríguez O. Estudio de la actividad hipoglucemiante y antioxidante de tronadera, wereque y raíz de nopal [tesis]. México: instituto politécnico nacional. 2015. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/17972/TESISOlivia%20Yane%20Rodr%C3%ADguez%20Carmona.pdf?sequence=1>
12. De la Paz J, Corral A, Rivero G, Fernández M, Pérez P. Efecto hipoglicemiante del extracto fluido de Tecoma stans Linn en roedores. Rev Cub Med Mil [Internet]. 2003. [consultado 2017 Jun 27]; 32(1): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572003000100002&lng=es
13. Corral A, Jiménez G, Paz J. Droga cruda y extracto fluido de Tecoma stans L. Rev Cubana Plant Med [Revista en Internet]. 2002 Dic [consultado 2017 Nov 06]; 7(3): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962002000300005&lng=es.
14. Villarreal S, Moreno S, Jaimez D, Rojas L, Lucena M, Díaz L, et. al. Actividad antibacteriana y antioxidante de extractos crudos de plantas pertenecientes a la familia Bignoniáceae. acta bioclinica [revista en línea]. 2017 [consultado 2018 septiembre 24]; 7(14):205-222. Disponible en: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/actabioclinica/article/view/8354>

15. García F. Evaluación in vitro e in vivo de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. [Tesis].Europea: Facultad de Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos Universidad de Murcia. 2005. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/11052/GarciaAlonso2de2.pdf?sequence=2>
16. Coronado M, Vega S, Gutiérrez L, Vázquez M, Radilla C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Rev Chil Nutr. [Revista en línea]. 2015 [consultado 2018 May 27]; 42(2) disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>
17. Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea (Concepción). [Revista en línea]. 2006 [consultado 2018 May 27]; (494), 161-172. disponible en: <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-04622006000200010>
18. Velásquez M, Prieto B, Contreras R. El envejecimiento y los radicales libres. [internet]. 2004 [consultado 2018 May 27]; (8), 36-43 disponible en: <http://www.ejournal.unam.mx/cns/no75/CNS07505.pdf>
19. Macedo A. La producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las mitocondrias de *Saccharomyces cerevisiae*. TIP [revista en la Internet]. 2012 Dic [citado 2018 Nov 03]; 15(2): 97-103. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2012000200003&lng=es.

20. Piña E. Los radicales libres. Beneficios y Problemas. Gac Méd Méx [Revista en Internet]. 2004 Mar [consultado 2018 Mayo 30]; 132 (2): 183 – 207. Disponible en: https://www.anmm.org.mx/bgmm/1864_2007/1996-132-2-183-203.pdf
21. Corrales L, Muñoz M. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. Nova - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas [Revista en línea]. 2012 [consultado 2018 May 27]; (10)135 - 250. disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>
22. Martínez G. Especies reactivas del oxígeno y balance redox, parte I: aspectos básicos y principales especies reactivas del oxígeno. Rev Cubana Farm [Revista en línea]. 2005 Dic [citado 2018 Jun 08]; 39(3). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000300009&lng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000300009&lng=es)
23. Zorrilla A, Eirez M, Izquierdo M. Papel de los radicales libres sobre el ADN: carcinogénesis y terapia antioxidante. Rev Cubana Invest Bioméd [Revista en Internet]. 2004 Mar [consultado 2018 Mayo 30]; 23(1): 51-57. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002004000100008&lng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002004000100008&lng=es)
24. Acosta R, Díaz B. evaluación composicional, capacidad antioxidantes de pulpa y cáscara de la *Annona muricata* l. (guanábana)” [Tesis]. Peru: Facultad de industrias alimentarias escuela de formación profesional de bromatología y nutrición humana. 2016. Disponible en: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4086/Rosa_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y

25. Poggio M. Consumo de antioxidantes naturales en personas con dislipidemia [tesis]. Rosario: Universidad abierta interamericana. 2012. disponible en: <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112329.pdf>
26. Benítez D. Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. Rev Cubana Invest Bioméd [Revista en línea]. 2006 Jun [citado 2018 Jun 08]; 25(2): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002006000200010&lng=es.
27. García E, Fernández I, Fuentes A. Determinación de polifenoles totales por el método de FolinCiocalteu. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%A9nez%20et%20al.pdf?sequence=1>
28. Kiskoski M., Auero A., Troncoso A. y Mancini J. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en pulpa de frutos. Cienc. Tecnol. Aliment. Campinas. Brasil. 2005. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>
29. Ramos R. evaluación de la capacidad antioxidante de productos tradicionales de la región Junín “granadilla, guinda, habas, quiwicha, oca, quinua, tuna, tumbo y yacon”. [Tesis]. Huancayo: Universidad nacional del centro del Perú. 2011. Disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/1219/TESIS%20RICA%20RAMOS%20CRISPIN.pdf?sequence=4&isAllowed=y>

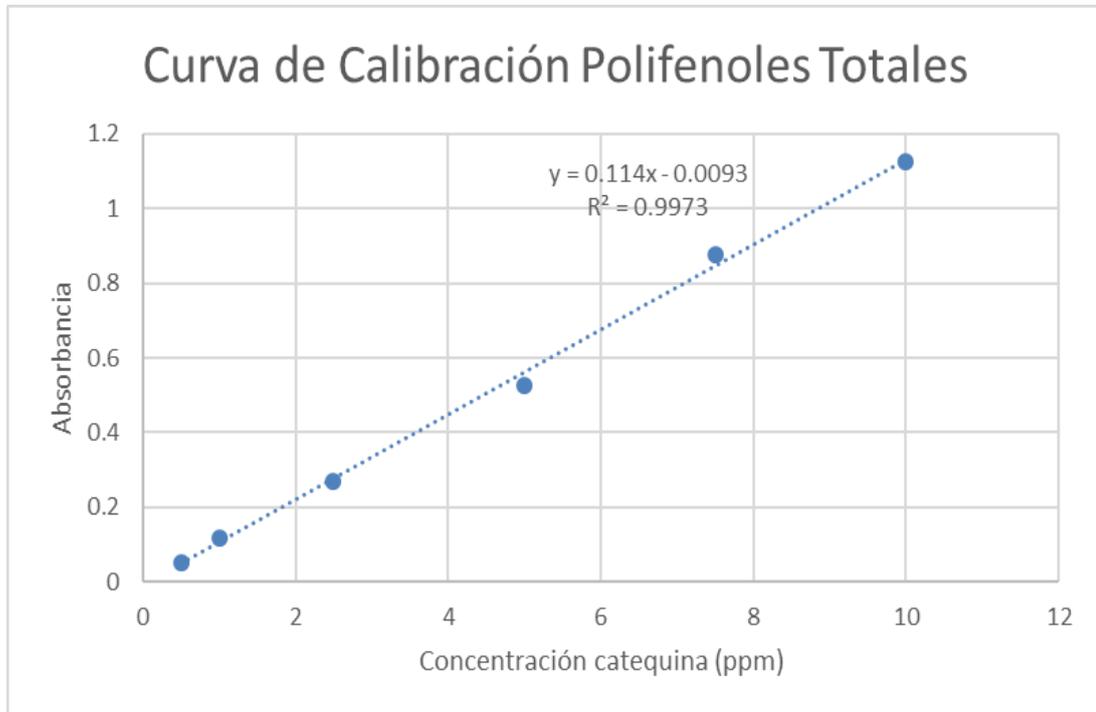
30. Salazar R, Soihet C. Manejo de semillas de 75 especies forestales de América Latina. [libro en línea]. Turrialba: CATIE; 2001 [consultado 11 julio 2017] disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=gUYxSnfIE5AC&pg=PA35&dq=tecoma+stans&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjfuLXYi4LVAhUJWCYKHZyZB-MQ6wEINTAD#v=onepage&q=tecoma%20stans&f=false>
31. Tedeschi P., Maietti A. Vázquez E., Bonetti G., Bergantin C., Marchetti N. y Brandolini V. Una alimentación antigua funcional: El Ortico. Art. Nutracético de Ortiga. Italia. 2018. Disponible en: <https://www.natural1.it/nutraceutica/item/download/2134>
32. Roginsky V, Lissi E. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. Food Chemistry [Revista en línea]. 2005 [consultado el 15 de Oct. 2018]. (92) 235–254. Disponible en: <http://sci-hub.tw/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.004>
33. Valencia E, Ignacio I, Sosa E, Bartolomé M, Martínez H, García M. Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. Revista de la Facultad de Ciencias Químicas [Revista en línea]; 2017 ene. [consultado 29 de octubre del 2018]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/29781/1/2.%201583-4794-2-PB.pdf>

34. Verde M, García S, Rivas C. metodología científica para el estudio de plantas medicinales. Investigación en plantas de importancia médica [Revista en línea]. 2016 [consultado 29 de octubre del 2018].1-40. disponible en: <http://www.omniascience.com/monographs/index.php/monograficos/article/viewFile/335/236>
35. Nihal Turkmen, Ferda Sari, Y. Sedat Velioglu. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. Food Chemistry [Internet]. 2005 [cited 2018 Nov. 29]; (93) 713–718. Available from: <https://fs.unb.br/nutricao/laboratorios/tecdie/wp-content/uploads/2012/10/The-effect-of-cooking-methods-on-total-phenolics-and-antioxidant-activity-of-selected-green-vegetables.pdf>

Anexos

Anexo 1

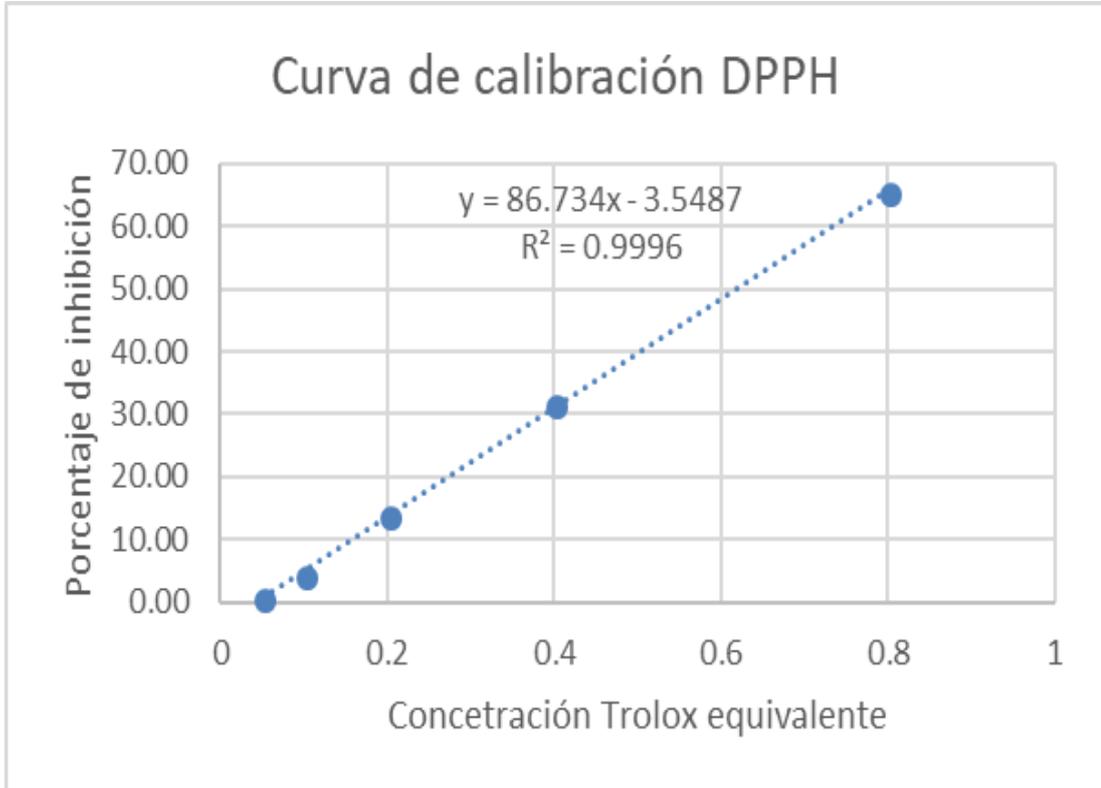
Grafico 1: Curva de calibración de polifenoles totales



Fuente: Datos de la investigación

Anexo 2

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



Fuente: Datos de la investigación

Anexo 3

Figura 3: Fotografía de la planta de *Tecoma stans*



Anexo 4

Constancia de la determinación taxonómica de la planta *Tecomas stans*



Herbarium Truxillense (HUT)

Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N° 78 – 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 : Tubiflorae
Familia : Bignoniaceae
Género : **Tecoma**
Especie : ***T. stans*(L.) Juss. ex Kunth**

Muestra alcanzada a este despacho por FLORA SANTOS TORIBIO, identificado con DNI N°45653486, con domicilio legal Villa maria, Mz. F LT. 11, Nuevo Chimbote; estudiante procedente de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del proyecto para optar el grado de Bachiller "Efecto diurético del extracto de las hojas de ***Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth** "timboco"

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

Trujillo, 01 de Setiembre del 2017




Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT

cc. Herbario HUT

E- mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com