

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE MYRCIANTHES DISCOLOR "LANCHE" PROVENIENTE DE LA REGIÓN CAJAMARCA, 2015

DETERMINATION OF ACTIVITY HYDROALCOHOLIC EXTRACT ANTIOXIDANT LEAVES MYRCIANTHES DISCOLOR "LANCHE" FROM THE REGION CAJAMARCA, 2015

Bertha H Muñoz, Rafael R Tejada**, Patricia I Minchán****

RESUMEN

El presente trabajo de investigación estuvo enfocado a la determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" proveniente de la Región Cajamarca, a través de los ensayos in vitro del DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazyl) y del ensayo AAPH (2,2'-azobis-(2-aminopropano)-dihidroclorhídrico). Para ello se preparó un extracto hidroalcohólico al 10% p/v con etanol 96° de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche". Posteriormente se prepararon diluciones de 1mg/mL para realizar los respectivos ensayos en alícuotas de 10 µL a 300 µL. Los resultados del DPPH, posee actividad antioxidante, observándose la máxima capacidad atrapadora de radicales libres DPPH entre los 50 µL a 300 µL, con un porcentaje máximo de 95,1% a los 150 µL y 300 µL, mostrando diferencia significativa ($p = 0,0337$; IC = 95%); en el ensayo del AAPH se determinó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" presenta actividad antihemolítica en todas las concentraciones (10 µL a 300 µL) ensayadas, mostrando diferencia significativa ($p = 0,033$; IC = 95%), con un porcentaje máximo de actividad antihemolítica (89,8%) a los 300 µL.

La actividad antioxidante que presenta *Myrcianthes discolor* "lanche" se explica por la presencia de polifenoles totales ($1880,3 \pm 264,9$ mgEAG/gES), taninos catéquicos y flavonoides encontrados en la planta en estudio, tal como se demostró al realizar la correlación de los ensayos del DPPH y AAPH, cuantificación de polifenoles totales a través del Método de Folin-Ciocalteu y de la marcha fitoquímica, fitoconstituyentes que podrían ser responsables de la propiedad antioxidante.

Esto nos permite aceptar la hipótesis que se planteó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" tiene actividad antioxidante y que puede ser una fuente potencial frente al estrés oxidativo.

*, **Químicos Farmacéuticos egresados de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica de la UPAGU. Cajamarca - Perú. Correos electrónicos: Ayd_2787@hotmail.com, raymi_rafaelterri@hotmail.com

***Químico Farmacéutico. Docente de la Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo. Cajamarca-Perú. Correo electrónico: patricia.minchan@upagu.edu.pe

Palabras Claves: Myrcianthes discolor "lanche", antioxidante, DPPH, AAPH

ABSTRACT

This research was focused on the determination of antioxidant activity of the hydroalcoholic extract of leaves Myrcianthes discolor "lanche" from the Cajamarca region, through in vitro trial of DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazyl) and trial of AAPH (2,2'-azobis(2-aminopropane)-dihidroclorhídrico). For this a hydroalcoholic extract 10% w/v ethanol 96° of leaves of Myrcianthes discolor "lanche" was prepared. Later dilutions of 1 mg / mL were prepared for the respective trials in aliquots of 10 µL at 300 µL. The results of DPPH showed that leaves of Myrcianthes discolor "lanche" possesses antioxidant activity observing maximum scavenging capacity of DPPH free radicals between 50 µL to 300 µL, with a maximum rate of 95,1% at 150 µL and 300 µL, showing statistically significant difference ($p = 0,0337$; CI = 95%). In the trial of AAPH it was determined that the hydroalcoholic extract of the leaves Myrcianthes discolor "lanche" presents antihemolytic activity at all concentrations tested (10 µL to 300 µL), with statistically significant differences ($p = 0,033$; CI = 95%) with a maximum rate of 89,8% antihemolytic activity at 300 µL.

The antioxidant activity that Myrcianthes discolor "lanche" presents is explained by the presence of totals polyphenols ($1880,3 \pm 264,9$ mgGAE/gDE), catechists tannins and flavonoids found in the plant under study, as was demonstrated by performing the correlation the results of DPPH and AAPH, with quantification of totals polyphenols through the Folin-Ciocalteu method and phytochemical march. Given these results we can say that the alcoholic extract of the leaves Myrcianthes discolor "lanche", is a potential source of antioxidants against oxidative stress.

Keywords: Myrcianthes discolor "lanche", antioxidant, DPPH, AAPH

INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes son conocidos como 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.

En los alimentos el proceso de auto-oxidación y generación de la rancidez es causado por radicales libres como consecuencia de la peroxidación lipídica y en los sistemas vivos los radicales libres atacan moléculas biológicas claves, produciendo muchas enfermedades degenerativas. Un desequilibrio entre prooxidantes y antioxidantes en el organismo genera el fenómeno llamado estrés oxidativo, el cual es clave en el desarrollo de enfermedades crónicas tales como cáncer,

En los últimos años el interés por los antioxidantes naturales se ha incrementado dramáticamente, debido principalmente a tres razones: (1) la baja seguridad que ofrece el consumo de antioxidantes sintéticos, (2) la eficacia antioxidante de una variedad de agentes fitoquímicos, y (3) la idea generalizada de que el consumo de ciertos agentes fitoquímicos pueden afectar de manera positiva la patología de las enfermedades crónicas y el proceso de envejecimiento; además, la creencia de que los compuestos naturales son innatamente más seguros que los compuestos sintéticos y por consiguiente son comercialmente más aceptados.

Los antioxidantes derivados de las plantas desde el punto de vista fitoquímico pueden ser taninos, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas, xantonas, ácidos fenólicos, flavones, flavonoles, catequinas, antocianinas y proantocianinas, los cuales debido a sus propiedades redox pueden actuar como donadores de hidrógenos neutralizando radicales libres y con ello pueden ayudar a prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades degenerativas.

Instrumentos, Equipos, Materiales y Reactivos

Instrumentos: Microsoft Excel, SSPS (Statistical Package for the Social Sciences).

Equipos: Espectrofotómetro UV/VIS Spectronic 20 modelo Genesys, Estufa: Memmert, Refrigeradora: Coldex, Balanza analítica: Ohaus modelo Explorer, Rotavapor R-210 BUCHI Switzerland, Baño maría con agitador: Memmert, Centrifuga: Hettich EBA 20, Vórtex: VM2, made in Germany.

Materiales: Materiales de vidrio y otros de uso común en el Laboratorio de Tecnología Farmacéutica.

Reactivos: DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) 99%. Laboratorio: Merck, AAPH (2,2'-azobis-(2-aminopropano)-dihidroclorhídrico). Laboratorio: Sigma, TROLOX (R)-(+)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) 98%. Laboratorio: Sigma, Reactivo de Folin-Ciocalteu. Laboratorio: Merck, Ácido Gálico. Laboratorio: Sigma, Carbonato de sodio anhidro. Laboratorio: Merck, Solución de buffer fosfato pH 7,4, Etanol 96°. Comercial, Tricloruro férrico 9%, Benceno 99,7%, densidad: 0,88 Kg/L, Hidróxido de potasio 10%, Éter de petróleo 35° - 60°, densidad: 0,673 Kg/L, Ácido clorhídrico 1%, Metanol 99,8%. Laboratorio: Sigma, Reactivo de Bouchardat 10%, Reactivo de Dragendorff 10%, Reactivo de Mayer 10%, Hidróxido de amonio (amoníaco) 25%, Agua destilada, Dimetil sulfóxido 1%. Laboratorio: Sigma.

MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN

a) Obtención y preparación de la muestra.

Recolección y selección de la muestra vegetal: Las muestras se recolectaron en el caserío Yumagual ubicado a una altitud de 2623 m.s.n.m, distrito de San Juan, provincia de Cajamarca, departamento Cajamarca; después de la recolección, se seleccionaron las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche", y luego se lavaron con agua potable.

b) Preparación del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche":

A partir de las hojas frescas seleccionadas, se procedió a obtener el extracto hidroalcohólico al 10% p/v de las hojas. Para ello se pesaron 200 gramos de las hojas frescas (sólo las hojas que se encontraron en buen estado), las cuales se adicionaron en dos matraces Erlenmeyer de una capacidad de 1000 mL, luego se adicionaron 1000 mL de etanol de 96° a cada matraz Erlenmeyer, se dejó en agitación constante durante 24 horas en un agitador magnético, a temperatura ambiente. Pasado este tiempo, se procedió a filtrar con un embudo y papel filtro, y luego se tomó una pequeña cantidad aproximadamente 100 mL para realizar la marcha fitoquímica. El resto del extracto hidroalcohólico obtenido se trasladó a concentrar en el equipo de Rotavapor a presión y temperatura reducida hasta haber extraído el alcohol contenido en la muestra.

Finalmente el extracto hidroalcohólico se depositó en una cápsula de porcelana, se llevó a la estufa a una temperatura de 40 °C por un tiempo de 3 días, una vez seco fue envasado en viales de vidrio de color ámbar con tapa ancha y fue almacenado en refrigeración hasta su análisis.

c) Determinación de la Capacidad

Atrapadora de radicales libres DPPH (2,2-Difenil-1-picril-hidrazilo):

El ensayo de DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazyl) evalúa la capacidad de un posible antioxidante para reducir el radical DPPH. El compuesto 2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazyl (DPPH) es un radical estable, de color azul-violeta y que absorbe radiación a 517 nm decolorándose hacia amarillo pálido por reacción con una sustancia antioxidante, por lo que su concentración se puede determinar por métodos espectrofotométricos y por diferencia de absorbancias se puede obtener el porcentaje de captación de radicales libres.

* Preparación de la Solución de DPPH: Se pesó 1 mg del reactivo DPPH al 99 % en una balanza analítica, posteriormente se añadió a un matraz de aforo de 50 mL y se llevó a volumen con Metanol. El reactivo se preparó el día de su utilización y estuvo aislado de la luz por medio de la protección del matraz de aforo con papel aluminio.

* Medición de la actividad atrapadora de radicales libres del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche": A partir del extracto hidroalcohólico seco al 10 % p/v de las hojas se preparó una solución metanólica madre cuya concentración fue de 10 mg del extracto hidroalcohólico seco con 10 mL de metanol.

Luego se realizó el ensayo por triplicado para ello se tomaron alícuotas de 10 µL, 25 µL, 50 µL, 100 µL, 150 µL y 300 µL y se colocaron en tubos de ensayos de 10 mL, posteriormente se adicionó a cada una 2 mL de la solución de DPPH, estas soluciones fueron homogenizadas con la ayuda de un vortex y se dejó en incubación por 30 minutos en baño maría a 37 °C. Cumplido el tiempo de incubación se determinó la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro Spectronic modelo Genesys 20.

Se utilizó como blanco al metanol, para el control se utilizó la solución de DPPH una cantidad de 2 mL más 20 μ L de metanol. El ensayo se realizó por triplicado para cada concentración en estudio, y fueron comparados con Trolox como estándar de referencia.

Con los valores de las absorbancias obtenidas del extracto hidroalcohólico de las hojas, se calculó el porcentaje atrapador de radicales libres DPPH mediante la siguiente fórmula:

d) Determinación de la capacidad antihemolítica según el método de AAPH (2,2'-azobis-(2-aminopropano)-dihidroclorhídrico).

- Se extrajo 2 mL de sangre humana de un voluntario sano (en ayunas y no fumador) mediante punción venosa en una jeringa heparinizada.

- Posteriormente se adicionó 2,8 mL de NaCl al 0,9% y se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos para separar el plasma, plaquetas y leucocitos de los glóbulos rojos (RBCs). Se retiró el sobrenadante y la suspensión de eritrocitos obtenida fue lavada nuevamente con una cantidad de 2,8 mL de NaCl 0,9%. Se repitió la operación dos a tres veces hasta que se obtuvo una suspensión compacta de eritrocitos.

- Se tomaron 400 μ L de eritrocitos lavados y se llevó a volumen de 100 mL en una fiola y se aforó a volumen con solución tampón a pH 7,4, para la solución de RBC.

- Posteriormente en un primer tubo de ensayo se añadió 750 μ L de la solución de RBC y 2250

μ L de agua destilada (Hemólisis total).

- En un segundo tubo de ensayo se añadió 750 μ L de solución de RBC y 2250 μ L de PBS (Hemólisis basal).

- En un tercer tubo de ensayo se añadió 450 μ L de solución de AAPH (2,2'-azobis-(2-aminopropano) dihidroclorhídrico) 500 mM (solución que se preparó al doble con 1,351 g de AAPH, pesados en balanza analítica y llevado a 10 mL en matraz de aforo con PBS), con 750 μ L de RBC y se completó a volumen con 1800 μ L PBS (Hemólisis con AAPH).

- En un cuarto tubo de ensayo se añadió 10 μ L de Trolox y una cantidad de 750 μ L de RBC y 2240 μ L de PBS.

- La cuantificación del extracto se realizó con AAPH y en el ensayo también se utilizó como estándar al Trolox. Los tubos que contuvieron la muestra del extracto hidroalcohólico seco tuvieron alícuotas de 10 μ L, 30 μ L, 50 μ L, 100 μ L y 300 μ L.

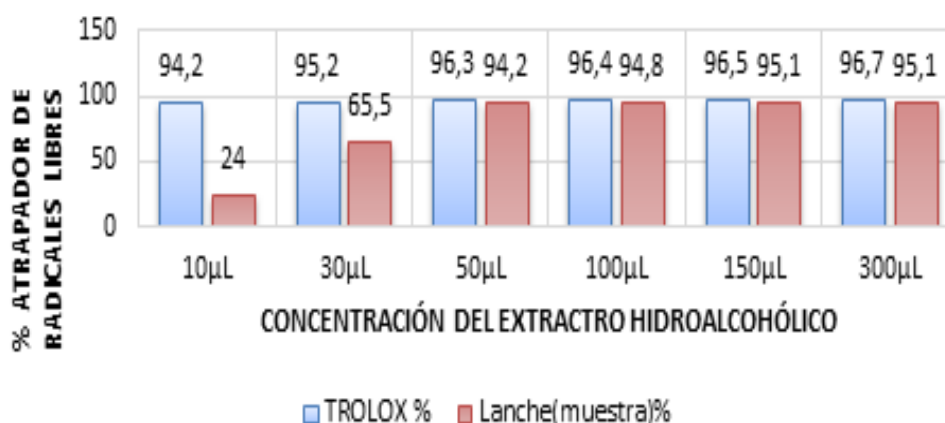
- Los tubos de ensayo fueron sometidos a baño maría con agitación a 37 °C por 3 horas. Pasado el tiempo de incubación, fueron llevados a centrifugación a 3500 rpm por 5 minutos, y finalmente se realizó la lectura de la absorbancia del sobrenadante a 540 nm. El ensayo se realizó por triplicado.

- El valor del porcentaje de hemólisis se determinó a través de la siguiente fórmula:

e) Determinación de Polifenoles Totales: El contenido total de Polifenoles del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "Lanche se determinó mediante el Método de Folin-Ciocalteu.

Fuente: ANOVA. Valores de $p < 0,05$ como significativo y $p > 0,05$ como no significativo, siendo el valor de $p = 0,0337$; IC = 95%.

Gráfico 1. Porcentaje de la capacidad atrapadora de radicales libres del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" proveniente de la Región Cajamarca, mediante el método de DPPH vs Trolox.



Interpretación: El ensayo de DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl - hidrazyl), que evalúa la capacidad atrapadora de radicales libres, mostró que el Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche", presenta actividad antioxidante en todas las

concentraciones ensayadas (10 µL hasta 300 µL), con una máxima capacidad atrapadora de radicales libres entre las concentraciones de 50 µL a 300 µL, y un máximo porcentaje de 95,1% a los 150 µL y 300 µL.

Tabla 2: Porcentaje de la Actividad Antihemolítica del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" proveniente de la Región Cajamarca, mediante el método de AAPH vs Trolox.

Concentración de Extracto Hidroalcohólico y Trolox	<i>Myrcianthes discolor</i> "lanche" % de la actividad antihemolítica	TROLOX % de la actividad antihemolítica
10 µL	84,1	95,6
30 µL	89,8	95,6
50 µL	73,9	88,4
100 µL	88,4	98,5
300 µL	89,8	98,5

Fuente: ANOVA. Valores de $p < 0,05$ como significativo y $p > 0,05$ como no significativo, siendo el valor de $p = 0,033$; IC = 95%.

Para ello se realizó primero el preparado de la solución de ácido gálico y de carbonato de sodio, y luego se realizó la curva de calibración.

- Preparación de solución estándar de ácido gálico: Se añadió 0,5 g de ácido gálico y se aforó hasta 100 mL, la cual se disolvió en 10 mL de etanol y se llevó a volumen con agua destilada, luego de ello se mantuvo en refrigeración hasta su utilización.

- Preparación de solución de carbonato de sodio: Se disolvió 2 g de carbonato de sodio anhidro en un matraz de aforo de 10 mL, para obtener una solución 20% p/v.

- Preparación de la curva de calibración: Para preparar la curva de calibración se agregó 0, 1, 2, 3, 5, y 10 mL de la solución patrón de ácido gálico, en diferentes fioas y de esta manera se llevó a aforo de 100 mL con agua destilada, consiguiéndose soluciones con concentraciones de fenoles de 0, 50, 100, 150, 250 y 500 mg/L. De cada una de estas soluciones se tomaron 20 µL en tubos separados y se agregaron 1580 µL de agua destilada y 100 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu, y se mezclaron; posteriormente se esperó entre 20 segundos a 8 minutos, luego de este tiempo se agregó 300 µL de la solución de carbonato de sodio al 20% p/v, se

agitó en vortex y se dejaron las soluciones a 20° C por 2 horas. El ensayo se preparó por triplicado. Finalmente se realizó las lecturas de las absorbancias de cada solución a 760 nm contra el blanco (solución "0 mL" de ácido gálico).

- Finalmente se graficó la Absorbancia vs. Concentración, para obtener el factor de conversión, ya que el contenido de polifenoles debe expresarse en miliequivalentes de ácido gálico/g de extracto seco.

- Cuantificación de Polifenoles Totales según Método de Folin- Ciocalteu en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche": Para la muestra en estudio se siguió el mismo procedimiento que para la curva de calibración, con la condición de que se tomaron 20µL de la solución del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "Lanche, en lugar del ácido gálico. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico por g de extracto seco y se contrastó con Trolox como estándar, al que se preparó en las mismas condiciones que la muestra de estudio.

RESULTADOS

Tabla 1. Porcentaje de la capacidad atrapadora de radicales libres del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" proveniente de la Región Cajamarca, mediante el método de DPPH vs Trolox.

Concentración de Extracto Hidroalcohólico y Trolox	<i>Myrcianthes discolor</i> "lanche" % atrapador de radicales libres	TROLOX % atrapador de radicales libres
10 µL	24,0	94,2
30 µL	65,5	95,2
50 µL	94,2	96,3
100 µL	94,8	96,4
150 µL	95,1	96,5
300 µL	95,1	96,7

Gráfico 2. Porcentaje de la Actividad Antihemolítica Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" proveniente de la Región Cajamarca, mediante el método de AAPH vs Trolox.

Interpretación: Al evaluar la Actividad Antihemolítica del Extracto Hidroalcohólico de las hojas *Myrcianthes discolor* "lanche" mediante el ensayo 2,2'-azobis-(2-aminopropano)-dihidroclorhídrico (AAPH),

se observó que presenta actividad antihemolítica en todas las concentraciones ensayadas 10 μ L a 300 μ L, siendo el porcentaje más alto de la actividad antihemolítica 89,8% a los 300 μ L.

Tabla 3. Concentración de Polifenoles totales en el Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" proveniente de la Región Cajamarca según el Método de Folin-Ciocalteu.

Muestra	*Prom \pm DS
<i>Myrcianthes discolor</i> "lanche"	1880,3 \pm 264,9
Trolox	5074,2 \pm 92

*mg Equivalentes de Ácido Gálico por g de Extracto seco.

Fuente: ANOVA. Valores de p $>$ 0,05 como significativo y p \leq 0,05 como no significativo, siendo el valor de p = 0,033; IC = 95%.

Gráfico 3. Concentración de Polifenoles totales del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" proveniente de la Región Cajamarca según el Método de Folin-Ciocalteu.

Interpretación: El extracto seco de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" presenta 1880,3 mg \pm 264,9 mg EAG/gES de

polifenoles totales, inferior a la concentración de polifenoles totales del Trolox (5074,2 \pm 92 mg EAG/gES).

Tabla 4. Resultados de la marcha fitoquímica del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" proveniente de la Región Cajamarca.

Determinación	Coloración	Resultados
Antraquinonas (Reacción de Bornträger)	Incoloro	Negativo
Taninos	verde	Catéquicos
Alcaloides	Incoloro	Negativo
Flavonoides	Amarillo intenso	Positivo

Fuente: ANOVA. Valores de p \leq 0,05 como significativo y p $>$ 0,05 como no significativo, siendo el valor de p = 0,033; IC = 95%.

DISCUSIÓN

El oxígeno está directamente asociado a las condiciones de vida aerobia, representa la fuerza motriz para el mantenimiento del metabolismo y viabilidad celular, al mismo tiempo que involucra un peligro potencial debido a sus características paramagnéticas, responsable de la formación de

intermediarios parcialmente reducidos y dotados de una alta reactividad conocidas como "Especies Reactivas de Oxígeno" (EROs), entre las que se encuentran a los radicales libres (RL).

Las plantas poseen fitoconstituyentes con capacidad de neutralizar radicales libres, por ello en el presente trabajo se estudió la

la actividad antioxidante de *Myrcianthes discolor* "lanche", determinándose a través del ensayo del DPPH que el extracto hidroalcohólico de sus hojas en concentraciones de 10 μ L a 300 μ L, posee actividad antioxidante, observándose la máxima capacidad atrapadora de radicales libres DPPH entre los 50 μ L a 300 μ L, con un porcentaje máximo de 95,1% a los 150 μ L y 300 μ L.

La actividad antioxidante puede medirse también, cuantificando la capacidad de una muestra vegetal para neutralizar la hemólisis causada por radicales AAPH. En el presente trabajo el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" presentó actividad antihemolítica en todas las concentraciones ensayadas (10 μ L a 300 μ L), con un porcentaje máximo del 89,8% a los 300 μ L.

Además, los resultados observados, tanto en el ensayo del DPPH como del AAPH fueron contrastados con Trolox, utilizado como estándar, para determinar la significancia estadística. El ANOVA indicó $p = 0,0337$ y $p = 0,033$ respectivamente con IC del 95%, valores de $p < 0,05$ considerado como significativo, lo que permite decir que la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" es significativo, tal como lo es la actividad del estándar. (Tabla 4 y 5).

Es conocido, y muchos estudios lo reportan, que los polifenoles son responsables de múltiples propiedades atribuidas a las plantas, dentro de ella la actividad antioxidante, por ello se cuantificaron los polifenoles totales presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" mediante el método de Folin-Ciocalteu, determinándose 1880,3 \pm 264,9 mgEAG/gES de polifenoles totales,

menor a la concentración de polifenoles totales del estándar que fue de 5074,2 \pm 92 mgEAG/gES como se muestra en la Tabla 6 y Gráfico 3.

Los polifenoles son compuestos bioactivos con capacidad antioxidante, propiedad que la deben a su estructura química con reactividad como donadores de electrones e hidrógenos, lo que les permite estabilizar y deslocalizar el electrón desapareado, terminando la reacción en cadena. Además, tienen habilidad para quelar iones de metales de transición y a su vez poseen una porción hidrofílica y una porción anfótera, pudiendo actuar en contra de EROs producidas en medios tanto hidrofóbicos como acuosos.

Por ello, los polifenoles han despertado un gran interés desde el punto de vista nutricional, y en la salud, por la prevención de diversas enfermedades, ya que ayudan a paliar procesos de estrés oxidativo que pudiera estar dándose en el organismo, como por ejemplo, a nivel de eritrocitos, células transportadoras de oxígeno, ricas en ácido grasos poliinsaturados, proteínas de membrana y de hemoglobina intracelular que hacen a estas células promotoras de procesos oxidativos y que, en condiciones normales están protegidas a través de un sistema antioxidante bien desarrollado compuesto por la glutatión, vitamina E y enzimas como la catalasa, superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa.

En el presente trabajo de investigación se realizó una marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico, que respaldaron los resultados de la actividad antioxidante de *Myrcianthes discolor* "lanche", y que cualitativamente coincidieron con lo encontrado en los estudios previamente citados, ya que se encontraron: taninos

catéquicos y flavonoides. Esto nos permite aceptar la hipótesis que se planteó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" tiene actividad antioxidante y que puede ser una fuente potencial frente al estrés oxidativo.

CONCLUSIONES

1. Se determinó la actividad antioxidante del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" proveniente de la Región Cajamarca.
2. Se evaluó la capacidad atrapadora de radicales libres del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" proveniente de la Región Cajamarca, mediante el ensayo de 2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazyl (DPPH), encontrándose un máximo porcentaje de 95,1% a los 150 μ L y 300 μ L.
3. Se evaluó la actividad antihemolítica del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" proveniente de la Región Cajamarca, mediante el ensayo de 2,2'-azobis-(2-amino propano)-dihidroclorhídrico (AAPH), encontrándose un máximo porcentaje de 89,8% a los a 300 μ L.
4. Se cuantificaron los polifenoles totales presentes en el Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" proveniente de la Región Cajamarca, mediante el Método de Folin Ciocalteu, determinándose una concentración de polifenoles totales de 1880,3 \pm 264,9 mgEAG/gES.
5. Se realizó la marcha fitoquímica de las hojas frescas de *Myrcianthes discolor* "lanche" proveniente de la Región Cajamarca, identificándose taninos catéquicos y flavonoides.

RECOMENDACIONES

- ü Se recomienda realizar más estudios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myrcianthes discolor* "lanche" proveniente de la Región Cajamarca.
- ü Realizar estudios in vivo a fin de poder determinar las concentraciones más adecuadas para obtener efectos terapéuticos.
- ü Realizar estudios de toxicidad.
- ü Promover el uso de *Myrcianthes discolor* "lanche" por ser una planta nativa con buenos efectos antioxidantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acevedo D, Granados C, Yáñez X. Evaluación de la Actividad Antioxidante del Aceite Esencial Foliar de *Myrcianthes leucoxyla* "arrayán" de Norte de Santander. Información Tecnológica [Revista en Internet] 2013; 25 (3): 11-16 [citado 2014]. Disponible en:
<http://www.scielo.cl/pdf/infotec/v25n3/art03.pdf>.
2. Aguilar R, García M, Honores Z, Llanos J. Metabolitos secundarios y actividad hipoglicémica de la *Myrcianthes myrsinoides* (HBK). Pueblo Continente [Revista en Internet] 2007; 18 (2): 225 - 32 [citado 3 de enero del 2015]. Disponible en:
https://cdn.fsbx.com/hphotosxfa1/v/t59.270821/10738795_751514561603184_927965876_n.pdf?oh=03b7fb551e5a27048fead6ab8781caa&oe=54AA0427.
3. Alam M, Bristi N, Rafiquzzaman M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal. 2012; 21: 143- 152.

4. Andrade J, Aboy A, Apel M, Raseira M, Pereira J, Henriques A. Food Sci. 2011; 76 (8); [citado el 03 Jun 15]. Disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22417582>

5. Avello M, Suwalsky M. Radicales Libres, Estrés Oxidativo y Defensa Antioxidante Celular. Facultad de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Concepción. [Revista en Internet] 2011; 17: 10 - 15 [citado 2013 Feb 05].

Disponible en:

http://www.ciencia-ahora.cl/Revista_17/03_RadicalesLibres.

7. Brand W, Cuvelier M, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm. Wiss. Techno. 1995; 22: 25 - 30.

8. Carocho M, Ferreira I. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. Food emical Toxicology. 2013; 51: 15 - 25.

9. Castañeda B, Ramos E, Ibáñez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Revista Horizonte Médico. 2008; 8 (1): 56.

10. Gonzales M. Estimación de la capacidad antioxidante de ácidos hidroxicinámicos obtenidos de las hojas de Lanche. [Tesis para optar el Título de Biotecnólogo]. México: Universidad Autónoma Metropolitana; División de Ciencias Biológicas y de La Salud. 2009. [Tesis en Internet]. Disponible en:

<http://148.206.53.84/tesiuami/UAMI15628.pdf>.

11. Loor R, Miño N. Determinación de la capacidad antioxidante de la nuez de macadamia mediante el método de DPPH,

obtención de su aceite aplicando la técnica de soxhlet y sus aplicaciones en los productos alimenticios y cosméticos. [Tesis para optar el Título de Ingeniero Químico]. Ecuador: Universidad de Guayaquil; Facultad de Ingeniería Química. 2012. [Tesis en Internet]. Disponible en:

<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/463/1/Macadamia.pdf>.

12. Stashenko E, Martínez J, Tafurt G, Miranda I, Cala M, Vásquez A. Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de Salvia aratocensis, Salvia Sochensis, Bidens reptans y Montanoa ovalifolia. Scientia et Technica. 2007. 13 (33): 205 - 207.

13. Tapia A, Rodríguez J, Theoduloz C, López S, Feresin E, Schmeda-Hirschmann G. Free radical scavengers and antioxidants from baccharis grisebachii. Journal of Ethnopharmacology. 2004; 95: 155 - 161.

CORRESPONDENCIA

Autor: Bertha H. Muñoz

Correo: Ayd_2787@hotmail.com,
raymi_rafaelterri@hotmail.com