



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE 5  
ESPECIES DE RUBIACEAE DEL ECUADOR (*Palicourea pilosa*,  
*Palicourea amethystina*, *Palicourea sulphurea*, *Psychotria stenostachya* y  
*Cinchona sp*)**

**Trabajo de Integración Curricular**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTOR:**

**LUIS DAVID TASÁN ARIAS**

Riobamba – Ecuador

2022



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE 5  
ESPECIES RUBIACEAE DEL ECUADOR (*Palicourea pilosa*,  
*Palicourea amethystina*, *Palicourea sulphurea*, *Psychotria stenostachya* y  
*Cinchona sp*)**

**Trabajo de Integración Curricular**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTOR: LUIS DAVID TASÁN ARIAS**

**DIRECTOR: BQF. DIEGO RENATO VINUEZA TAPIA, M.Sc.**

Riobamba – Ecuador

2022

**©2022, Luis David Tasan Arias**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, LUIS DAVID TASÁN ARIAS, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 14 de diciembre de 2022

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Luis David Tasán Arias', with a stylized flourish extending to the left.

**Luis David Tasán Arias**

**060438114-5**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE 5 ESPECIES RUBIACEAE DEL ECUADOR** (*Palicourea pilosa*, *Palicourea amethystina*, *Palicourea sulphurea*, *Psychotria stenostachya* y *Cinchona sp*), realizado por el señor: **LUIS DAVID TASÁN ARIAS**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
BQF. Valeria Isabel Rodríguez Vinueza, Sc <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2022-12-14
BQF. Diego Renato Vinueza Tapia, M. S <b>DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2022-12-14
BQF. Gisela Alexandra Pilco Bonilla, M. <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>		2022-12-14

## **DEDICATORIA**

Primero quiero encomendarme a Dios por darme salud y vida para continuar con mi tan anhelado sueño de ser Bioquímico Farmacéutico, también a mi madre quien siempre me apoyo tanto económico como moralmente, y por enseñarme todos los valores, corregirme en mis defectos, gracias a ello puedo decir que soy la persona de hoy, y por ello quiero dedicarle este logro netamente a mi querida mami, no dejar de lado a todos esos maestros quienes nos fueron formando desde pequeños y cabe recalcar a los docentes de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo quienes realmente nos enseñaron todo acerca de nuestra carrera profesional, y en especial quiero agradecer a BQF. Diego Vinuesa, M. Sc quien me brindo sus conocimientos y me apoyo en todo momento tanto de la carrera como en mi trabajo de titulación.

Luis

## AGRADECIMIENTO

En primer punto quiero agradecer a Dios quien siempre me bendijo en todo mi camino, dándome salud a mí y a mi querida mama, también a mis amigos y docentes en todo momento de mi carrera, a su vez agradecer a mis compañeros de clase quienes siempre de una u otra manera colaboraron para salir siempre adelante, quienes también me apoyaron en momentos difíciles y me ayudaron a cumplir esta meta tan anhelada.

A mi querida mamá quien fue un pilar fundamental en cumplir mi sueño de ser un profesional, desde pequeño me enseñó demasiados valores en especial la humildad y el trabajo, por siempre apoyarme tanto económico como moralmente y no permitir decaer en momentos difíciles.

Agradecer a mi querida institución Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) por darme la oportunidad de ingresar y acogerme durante todos los años de mi carrera, a su vez a todos los docentes de la institución que sin ellos no podríamos llegar a cumplir nuestro sueño y forjarnos como profesionales que ahora somos.

Agradezco a la escuela de Bioquímica y Farmacia, en especial a BQF: Benjamín Román, quien es un profesional, amigo y me abrió las puertas del laboratorio Bioterio para realizar mis prácticas Preprofesionales y me apoyo en todo momento difícil de la carrera.

Agradecer a BQF. Diego Vinueza. M. Sc quien es un profesional de prestigio y a sido un ejemplo a seguir, a su vez por impartirme conocimientos dentro de la carrera y a su vez en mi trabajo de integración curricular, quien fue mi tutor y siempre busco lo mejor y la mejor opción en este trabajo.

Luis

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xi
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT .....	xv
INTRODUCCIÓN .....	1

### CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA .....	3
1.1. Planteamiento del problema .....	3
1.2. Objetivos.....	4
1.2.1. Objetivo general.....	4
1.2.2. Objetivos específicos.....	5

### CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO .....	6
2.1. Familia Rubiaceae .....	6
2.1.1. Características .....	6
2.1.2. Distribución Global. ....	6
2.1.3. Género Palicourea. ....	7
2.1.4. Género Psychotria. ....	8
2.1.5. Género Chinchona. ....	9
2.1.6. Permisos de recolección.....	9
2.2. Etnobotánica. ....	10
2.3. Antioxidantes. ....	11
2.3.1. Antioxidantes naturales. ....	11
2.3.2. Fuentes de antioxidantes. ....	11
2.4. Moléculas que otorgan la propiedad antioxidante.....	12
2.5. Mecanismos de acción .....	17
2.6. Determinación de captadores de radicales libres.....	17
2.7. Otras propiedades de la especie Rubiaceae con fines terapéuticos. ....	18
2.7.1. Actividad antimicrobiana. ....	18

2.7.2.	Actividad antiinflamatoria.....	18
--------	---------------------------------	----

### CAPÍTULO III

3.	MARCO metodológico .....	19
3.1.	Lugar de investigación .....	19
3.2.	Tipo y diseño de la investigación .....	19
3.3.	Población de estudio y/o tamaño de muestra y/o método de muestreo .....	19
3.3.2.	<i>Criterios de exclusión</i> .....	19
3.4.	Equipos, materiales y reactivos .....	20
3.5.	Técnicas y métodos .....	21
3.6.	Extracción del extracto para alcaloides .....	22
3.7.	Método DPPH* .....	23
3.8.	Sistema NADH/metosulfato de fenazina/NBT .....	25
3.9.	Tamizaje fitoquímico.....	26
3.9.1.	Ensayo de Dragendorff .....	26
3.9.2.	Ensayo de Mayer. ....	27
3.9.3.	Ensayo de Wagner. ....	27

### CAPÍTULO IV

4.	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	29
4.1.	Extracto seco de las 5 plantas de estudio. ....	29
4.2.	Uso del ácido ascórbico como patrón de referencia para el método DPPH. ....	29
4.3.	Resultado del extracto de <i>Palicourea pilosa</i> para la captación de radicales libres en el método DPPH.....	30
4.4.	Resultado del extracto de <i>Palicourea amethystina</i> para la captación de radicales libres en el método DPPH. ....	31
4.5.	Resultado del extracto de <i>Palicourea sulphurea</i> para la captación de radicales libres en el método DPPH. ....	32
4.6.	Resultado del extracto de <i>Psychotria stenostachya</i> para la captación de radicales libres en el método DPPH. ....	33
4.7.	Resultado del extracto de <i>Cinchona sp</i> para la captación de radicales libres en el método DPPH.....	34
4.8.	Uso del ácido gálico como patrón para determinar la inhibición de la formación de un radical superóxido .....	35

4.9.	Inhibición de la formación de radical superóxido por la fracción alcaloidal de <i>Palicourea pilosa</i> .....	36
4.10.	Inhibición de la formación de radical superóxido por la fracción alcaloidal de <i>Palicourea amethystina</i> .....	37
4.11.	Inhibición de la formación de radical superóxido por la fracción alcaloidal de <i>Palicourea sulphurea</i> .....	38
4.12.	Inhibición de la formación de radical superóxido por la fracción alcaloidal de <i>Psychotria stenostachya</i> .....	39
4.13.	Inhibición de la formación de radical superóxido por la fracción alcaloidal de <i>Cinchona sp</i> .....	40
4.14.	Análisis estadístico.....	42
4.15.	Discusión.....	44
	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>47</b>
	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>48</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-2:</b>	Propiedades físicas del Fenol. ....	13
<b>Tabla 2-2:</b>	Grupos químicos más importantes con actividad antimicrobiana.....	18
<b>Tabla 1-3:</b>	Concentraciones a trabajar en el método DPPH*.....	24
<b>Tabla 2-3:</b>	Concentraciones trabajadas en método NADH/metosulfato de fenasina/NBT .	26
<b>Tabla 3-3:</b>	Ensayo de Dragendorff.....	26
<b>Tabla 4-3:</b>	Ensayo de Mayer.....	27
<b>Tabla 5-3:</b>	Ensayo de Wagner.....	28
<b>Tabla 1-4:</b>	Resultados del patrón de referencia (Ácido ascórbico).....	29
<b>Tabla 2-4:</b>	Valores del ensayo DPPH para <i>Palicourea pilosa</i> . ....	30
<b>Tabla 3-4:</b>	Valores del ensayo DPPH para <i>Palicourea amethystina</i> .....	31
<b>Tabla 4-4:</b>	Valores del ensayo DPPH para <i>Palicourea sulphurea</i> . ....	32
<b>Tabla 5-4:</b>	Valores del ensayo DPPH para <i>Psychotria stenostachya</i> .....	33
<b>Tabla 6-4:</b>	Valores del ensayo DPPH para <i>Cinchona sp.</i> .....	34
<b>Tabla 7-4:</b>	Resultados del patrón de referencia (Ácido gálico).....	36
<b>Tabla 8-4:</b>	Valores del ensayo NADH/PMS/NBT para <i>Palicourea pilosa</i> .....	36
<b>Tabla 9-4:</b>	Valores del ensayo NADH/PMS/NBT para <i>Palicourea amethystina</i> . ....	37
<b>Tabla 10-4:</b>	Valores del ensayo NADH/PMS/NBT para <i>Palicourea sulphurea</i> . ....	38
<b>Tabla 11-4:</b>	Valores del ensayo NADH/PMS/NBT para <i>Psychotria stenostachya</i> . ....	40
<b>Tabla 12-4:</b>	Valores del ensayo NADH/PMS/NBT para <i>Cinchona sp.</i> .....	41

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1-2:</b>	Genero <i>Palicourea</i> .....	6
<b>Ilustración 2-2:</b>	<i>Género Palicourea</i> .....	7
<b>Ilustración 3-2:</b>	<i>Género Psychotria</i> .....	8
<b>Ilustración 4-2:</b>	Forma general del género <i>Cinchona</i> .....	9
<b>Ilustración 5-2:</b>	Fuentes de antioxidantes. ....	12
<b>Ilustración 6-2:</b>	Estructura básica de un fenol. ....	12
<b>Ilustración 7-2:</b>	Equilibrio redox.....	14
<b>Ilustración 8-2:</b>	Estructura de los flavonoles. ....	14
<b>Ilustración 9-2:</b>	Estructura de los alcaloides. ....	15
<b>Ilustración 1-3:</b>	Equipos a utilizar.....	20
<b>Ilustración 2-3:</b>	Reactivos .....	21
<b>Ilustración 3-3:</b>	Compuestos de referencia .....	21
<b>Ilustración 4-3:</b>	Proceso de extracción de extractos.....	23
<b>Ilustración 5-3:</b>	Cambio de color por presencia de antioxidantes en distintos compuestos... ..	24
<b>Ilustración 6-3:</b>	Representación esquemática de la reducción de NBT inducida por O*, gracias al sistema NADH/PMS .....	25
<b>Ilustración 1-4:</b>	Ajuste al modelo logarítmico para estimación de EC50 de ácido ascórbico.....	29
<b>Ilustración 2-4:</b>	Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 de <i>Palicourea pilosa</i> .....	30
<b>Ilustración 3-4:</b>	Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 de <i>Palicourea amethystina</i> .....	31
<b>Ilustración 4-4:</b>	Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 de <i>Palicourea sulphurea</i> .....	32
<b>Ilustración 5-4:</b>	Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 de <i>Psychotria stenostachya</i> .....	34
<b>Ilustración 6-4:</b>	Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 de <i>Cinchona sp.</i> ..	35
<b>Ilustración 7-4:</b>	Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 de ácido gálico. ..	36
<b>Ilustración 8-4:</b>	Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 del extracto de la planta <i>Palicourea pilosa</i> .....	37
<b>Ilustración 9-4:</b>	Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 del extracto de la planta <i>Palicourea amethystina</i> .....	38
<b>Ilustración 10-4:</b>	Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 del extracto de la planta <i>Palicourea sulphurea</i> .....	39

<b>Ilustración 11-4:</b> Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 del extracto de la planta <i>Psychotria stenostachya</i> .....	40
<b>Ilustración 12-4:</b> Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 del extracto de la planta <i>Cinchona sp.</i> .....	41
<b>Ilustración 13-4:</b> Diagrama de intervalo del patrón a comparación de los 5 extractos en el método DPPH* .....	42
<b>Ilustración 14-4:</b> Aplicación de la prueba de Dunnett en el método DPPH* .....	43
<b>Ilustración 15-4:</b> Diagrama de intervalo del patrón a comparación de los 5 extractos en el sistema NADH/metosulfato de fenazina/NBT .....	43
<b>Ilustración 16-4:</b> Aplicación de la prueba de Dunnett en el sistema NADH/metosulfato de fenazina/NBT .....	44

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>DPPH</b>	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
<b>NADH</b>	nicotinamida adenina dinucleótida
<b>NBT</b>	nitro-tetrazolio
<b>DMT</b>	Dimetiltryptamina
<b>g</b>	Gramos
<b>Ec50</b>	Concentración eficaz media
<b>ROS</b>	grupo de moléculas conteniendo oxígeno con diferente reactividad.
<b>OH</b>	Grupo hidroxilo
<b>Pa</b>	Presión de vapor
<b>mL</b>	Mililitros
<b>kg</b>	Kilogramos
<b>NH<sub>4</sub>OH</b>	Hidróxido amónico
<b>°C</b>	Grados Centígrados
<b>EDTA</b>	ácido etilendiaminotetraacético
<b>PMS</b>	metosulfato de fenazina
<b>HPLC</b>	Cromatografía Líquida de Alta Resolución
<b>TLC</b>	Cromatografía en capa fina.
<b>nm</b>	nanómetros

## RESUMEN

El objetivo de la investigación realizada fue determinar la presencia o ausencia de la actividad antioxidante en las plantas: *Palicourea pilosa*, *Palicourea amethystina*, *Palicourea sulphurea*, *Psychotria stenostachya* y *Cinchona sp*, para lo cual se recurre a la recolección, secado y extracción de metabolitos de la planta previamente tratada con método de naturaleza polar hidroalcohólico. El método DPPH el cual tiene como objetivo identificar la capacidad de captación de radicales libres por parte de las sustancias antioxidantes que podremos encontrar en las plantas previamente mencionadas en su extracto, donde el nitrógeno tendrá un electro que se reducirá al recibir un átomo de hidrogeno del antioxidante y así el resultado será un compuesto llamado hidracina. Luego de la reacción mencionada el color violeta que caracteriza al reactivo DPPH\* se tornara en un color amarillo el cual nos determinara si existe actividad antioxidante, luego de realizar esta prueba y verificando que la cuestión es positiva, se procede gracias a un patrón que en nuestro caso fue el ácido ascórbico cuantificar su actividad midiendo en el espectrofotómetro a 517nm. Una vez teniendo los resultados afirmativos del ensayo DPPH\* procedemos a realizar una extracción de alcaloides totales con el fin de determinar la actividad antioxidante específicamente con la aplicación del método NADH/metosulfato de fenazina/NBT el cual su mecanismo fundamental se basa en la reducción del metosulfato de fenazina (PMS) por parte de la coenzima NADH, lo que provoca la generación de radical superóxido cuyos electrones son transferidos a la sal de tetrazolio como aceptor final produciendo un formazán púrpura insoluble en agua, y consecuentemente medir su actividad a 560nm. Por último, determinado la actividad antioxidante de los 5 extractos se procede a la tabulación y aplicación de ANOVA unidireccional con un nivel de confianza del 95% para determinar las diferencias significativas.

**Palabras clave:** <ANTIOXIDANTE> <METABOLITOS> <HIDROALCOHÓLICO> <RADICALES LIBRES> <ESPECTOFOTÓMETRO> <ALCALOIDES> <COENZIMA> <RADICAL SUPERÓXIDO> <ANOVA>.



0298-DBRA-UPT-2023

## ABSTRACT

The aim of the research was to determine the presence or absence of antioxidant activity in the plants: *Palicourea pilosa*, *Palicourea amethystina*, *Palicourea sulphurea*, *Psychotria stenostachya* and *Cinchona sp*, to do that, it was necessary the collection, drying and extraction of metabolites of the plant previously treated with hydroalcoholic method. The DPPH method which aims to identify the free radical scavenging capacity of the antioxidant substances that can be found in the extracts of the plants previously mentioned, where the nitrogen will have an electron that will be reduced by receiving a hydrogen atom of the antioxidant and thus the result will be a compound called hydrazine. After the mentioned reaction the violet color that characterizes the DPPH\* reagent will turn into a yellow color which will determine if there is antioxidant activity, after performing this test and verifying that the question is positive, the quantification of its activity, thanks to a pattern which in our case was ascorbic acid, is carried out by measuring in the spectrophotometer at 517nm. Once the affirmative results of the DPPH\* assay is obtained, the process continues to perform an extraction of total alkaloids in order to determine the antioxidant activity specifically with the application of the NADH/phenazine methosulfate/NBT method whose fundamental mechanism is based on the reduction of phenazine methosulfate (PMS) by the coenzyme NADH, which causes the generation of superoxide radical whose electrons are transferred to the tetrazolium salt as a final acceptor producing a purple formazan insoluble in water, and consequently measuring its activity at 560nm. Finally, determining the antioxidant activity of the 5 extracts, the tabulation and application of one-way ANOVA at 95% confidence level is necessary to determine the significant differences.

**Keywords:** <ANTIOXIDANT>, <METABOLITES>, <HYDROALCOHOLIC>, <FREE RADICALS>, <SPECTROPHOTOMETER>, <ALKALOIDS>, <COENZYME>, <SUPEROXIDE RADICAL>, <ANOVA>.



Salazar Calderón Edison Hernán

C.I: 0603184698

## INTRODUCCIÓN

En nuestro país concurre una flora y fauna muy extensa dentro de las 4 regiones, llegando a ser un país con una riqueza muy excelsa gracias a su desenvolvimiento de bosques, al particular clima y contexto geográfico del país. En este sentido, se puede aludir que las especies vegetales pueden ser manejadas con fines ornamentales, medicinales o alimentarios.

En el estudio de plantas concurren un sin número de especies y en este momento tomamos la variedad Rubiaceae que precedentemente se ha estudiado con terminaciones terapéuticos, ya que pueden ostentar propiedades antiinflamatorias, antibacteriales, antitumorales, etc. En esta oportunidad estudiamos las plantas preliminarmente selectas buscando identificar una actividad antioxidante mediante radicales libres.(Vega, Guzmán 2021a)

Los radicales libres son compuestos químicos que poseen electrones, pero no todos se encuentran con su respectiva pareja, dando así lugar a reacciones de oxidación o reducción dependiendo de la situación a la que se someta y así busca su estabilidad y evita constituir compuestos inestables.(Avello, Suwalsky 2006a)

El oxígeno que se encuentra en nuestro cuerpo y es importante para vivir contiene radicales sueltos o libres, ciertas variedades no radicales que son oxidantes y se convierten expeditamente en radicales libres, como, por ejemplo: ácido hipocloroso, ácido hipo-bromoso, ozono, y el peróxido de hidrogeno.(Avello, Suwalsky 2006a)

El objetivo son la determinación de los antioxidantes que bien sabemos son captadores de electrones que no se encuentran en compuesto o también llamados radicales libres y gracias a ello retrasan incluso eliminan momentáneamente el proceso de oxidación lo cual evita la producción de compuestos que ayudan al deterioro como son los aldehídos y cetonas.

El potencial antioxidante los cuales provienen de los compuestos alcaloides y fenoles dependerá de la cantidad de hidroxilos, pero no solo de eso sino de su disposición en las moléculas que se localicen en estudio.

Al ingerir estos compuestos se dice que actúan como protectores frente a varias enfermedades entre las más importantes destacaremos el cáncer y enfermedades cardiovasculares, ahora abarcando otro tema hablaremos del estrés oxidativo el cual se puede definir como un desequilibrio de las especies reactivas del oxígeno y la respuesta de neutralizar los reactivos intermedios para así poder compensar el daño que se está ocasionando.(Coronado H. et al. 2015)

Investigaciones demuestran que se encuentran asociados a enfermedades como neoplasia, aterosclerosis y enfermedades neurodegenerativas, para lo cual como lo mencionamos anteriormente el consumo de estos productos antioxidantes ayudan a combatir diferentes enfermedades entre las más mencionadas se encuentran el cáncer de colon, mama, y algunos otros.(Científica 2002)

Los compuestos alcaloides son muy mencionados en la ciencia y medicina ya que tienen una variedad de propiedades fisiológicas, pero no todo es color rosa ya que los antioxidantes en distintas concentraciones pueden ser perjudiciales para la salud puesto que pueden ejercer efectos oxidantes.(Ibarra Estrada et al. 2011)

Ecuador es un país el cual tiene una gran variedad de plantas y no es una excepción las de la familia Rubiaceae la cual en 2018 reporto 45 géneros y más de 178 especies según investigaciones realizadas por Standley, actualmente se prevé que el número de géneros encontrados se haya duplicado incluso triplicado y no se diga el de las especies que quizás se encuentra x5.(Porto, Henriques, Fett-Neto 2009)

Luego de toda esta información el principal problema es la identificación de la actividad antioxidante de las 5 plantas de la familia Rubiaceae ya que es una familia que se encuentra en nuestro país y es digna de investigación para procesos aledaños de farmacia que ayudara a varias personas.

# CAPÍTULO I

## 1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

### 1.1. Planteamiento del problema

A partir de esta información, como bien sabemos las plantas tienen una habilidad impresionante de sintetizar compuestos químicos y en muchos casos los mismos sirven como mecanismos de defensa, pero en otro aspecto también generan los famosos antioxidantes los cuales se encargan de retardar o inhibir el proceso de oxidación para evitar la formación de aldehídos y cetonas el cual depende del número y disposición de grupos hidroxilo.

Los antioxidantes son compuestos químicos comúnmente pertenecen al grupo de fenoles y alcaloides, en el cuerpo de un ser vivo es utilizado para eliminar radicales libres los cuales pueden llegar a ser perjudiciales para la salud, puesto que los mismos pueden producir oxidación dentro del cuerpo, alteraciones en el ADN y peor aún envejecimiento acelerado del cuerpo. (Avello, Suwalsky 2006a)

Lo anterior se debe a que el oxígeno, que es esencial para la vida como bien sabemos, es también un elemento químico dentro de la tabla periódica muy reactivo. El cuerpo en sí genera radicales libres para su propio uso como el de: control de musculatura, eliminación de bacterias, regulación de la actividad de los órganos, etc.

También con la ingesta y generación del propio cuerpo los antioxidantes son usados y vitales para la eliminación de radicales libres sobrantes luego del proceso antes mencionado, para entender de mejor manera el tema indicaremos que es la oxidación celular, la cual de manera muy general se puede definir el estado en el que se encuentra un átomo libre o inestable pierde un electro y así quedando dispuesto a formar un nuevo compuesto con otro elemento así dando lugar a un desequilibrio entre producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad del sistema del ser de eliminar y limpiar su propio organismo de sustancias nocivas. (Vilaplana 2007)

El oxígeno que utilizamos para respirar es uno de los principales responsables de la oxidación celular el cual nos da energía de distintas maneras, pero en pequeñas porciones de este elemento producen los radicales libres es decir que se forman de manera normal en el organismo al momento de metabolizarlo.

El consumo de antioxidantes por su alta capacidad de secuestro de radicales libres ha sido asociado con la prevención del estrés oxidativo, estos antioxidantes actúan principalmente en reacciones de terminación de cadenas de radicales libres, impidiendo la oxidación de lípidos y otras moléculas cediendo átomos de hidrogeno de forma que cortan o inhiben la formación de radicales libres. (Coronado H. et al. 2015)

La evaluación de la actividad antioxidante de las 5 plantas de la familia Rubiaceae contribuirá al ámbito de la investigación ya que son plantas que se pueden encontrar en nuestro país y así ayudara a determinar su actividad antioxidante para posterior dar le uso con fines farmacológicos.

Para la realización de este estudio se cuenta con la disponibilidad de materiales, equipos y reactivos proporcionado por la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, los cuales ayudarán a la realización de este, bajo la instrucción de docentes y técnicos de laboratorio.

Desde tiempo inmemorables se ha venido realizando investigaciones tanto de los antioxidantes como de los radicales libres, y quienes se dedicaban a este tipo de investigaciones solo eran químicos y biólogos fundamentalmente, pero dándose que es un tema de mucho interés se ha ido sumando la medicina y de manera muy drástica.

El presente trabajo es un estudio de experimentación, todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para la generación de energía también desatan radicales libres lo cual es perjudicial para la vida a menos que existan antioxidantes o mecanismo de defensa contra este tipo de compuestos. La defensa se debe realizar a través de los antioxidantes los cuales causan un efecto protector frente a varias enfermedades ya previamente mencionadas.

El estudio de la familia Rubiaceae específicamente de las 5 plantas previamente mencionadas es primordial en el ámbito investigativo ya que son plantas que se encuentran en nuestro país y un estudio de las mismas es primordial para adquirir conocimientos para en un futuro llegar a realizar estudios e investigaciones más específicas con fines farmacológicos.

## **1.2. Objetivos**

### ***1.2.1. Objetivo general***

Evaluar la actividad antioxidante de 5 especies Rubiaceae del Ecuador las cuales son: *Palicourea pilosa*, *Palicourea amethystina*, *Palicourea sulfúrea*, *Psychotria stenostachya* y *Cinchona sp.*

### ***1.2.2. Objetivos específicos***

- Determinar si existe propiedades antioxidantes en las moléculas que son consideradas en el estudio de todos los extractos.
- Obtener el extracto en atención a las moléculas que potencialmente sean capaces de otorgar actividad antioxidante.
- Cuantificar la actividad antioxidante de los 5 extractos de las plantas de la familia Rubiaceae mediante el sistema NADH/NBT/metosulfato de fenasina (PMS) y el método DPPH\*.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Familia Rubiaceae

##### *Características*



**Ilustración 1-2:** Genero Palicourea.

**Fuente:** Carreterp, 2004.

Son la cuarta familia más grande estimada por su diversidad donde se redondea a un número de 630 géneros y más de 10 mil especies. Gran parte viven en regiones tropicales las mismas que tienen un papel muy importante en la vegetación de estas regiones como se puede apreciar en la ilustración 1-2.

Por la diversidad de la familia se dice que ni tan siquiera la mitad ha sido indagada por la ciencia, y eso que lo poco que se ha estudiado ha resultado útil para los beneficios de los humanos, puesto que en el Caribe se investigaron 100 plantas de esta familia, de las cuales más de la mitad trascendieron con propiedades útiles para el ser vivo luego de un procedimiento no tan complejo.

##### *Distribución Global*

Las Rubiáceas a lo largo del tiempo han logrado adaptarse a condiciones ambientales muy distintas por lo cual gracias a esa capacidad pueden plantarse y desarrollarse en cualquier habitat y al igual en condiciones no tan favorables como podemos mencionar condiciones de poca

humedad es decir en ambientes áridos, pero a su vez también pueden desarrollarse en ambientes contrarios al mencionado previamente como son los de bastante humedad.

En climas tropicales, también tenemos conocimientos que se han logrado desarrollar incluso en climas fríos como en el Ártico, un dato importante es mencionar que estas plantas podemos encontrarlas como especies herbáceas en climas templados, mientras que en climas tropicales se las observa como estructuras leñosas. (Ehrendorfer et al. 2018)

### ***Género Palicourea***



**Ilustración 2-2:** *Género Palicourea*

**Fuente:** Frohne, 2005.

Las plantas fanerógamas así también llamadas a las de este género que se puede apreciar en la figura 1-2, se las ha ubicado en los neotrópicos, tras distintas investigaciones se ha logrado conseguir información valiosa como que el género *Palicourea* es tóxico para varios animales y gracias a la experimentación animal se descubrió que un arbusto que crece en la región Amazónica causa una muerte súbita a los animales de experimentación.

Los conejos eran los animales de experimentación de aquel proyecto de investigación que con solo 2 gramos de ingesta de material seco de la planta por su peso en kilogramos causó su muerte.

Estudios también indican que los frutos pueden llegar a ser incluso más tóxicos, las hojas de este género también fueron diagnosticadas como tóxicas no solamente con los conejos sino con las vacas cabras y distintos animales que las ingerían, estudios realizados dieron con que el toxico presente en la planta era un ácido monofluoroacético que se encontraba en la planta. (Fronhe, 2005)

### ***Género Psychotria***



**Ilustración 3-2:** *Género Psychotria.*

**Fuente:** Colmeiro, 2001.

*Psychotria* es un género que habitualmente tiene flores y comúnmente se encuentran debajo de distintos árboles como se aprecia en la figura 1-3, en su mayoría de bosques tropicales. Existen diferencias de este género y el de *Cephaelis* los cuales no son de mucho interés.

Muchas especies, como *Psychotria ipecacuanha* o *Psychotria viridis*, tienen compuestos químicos muy importantes y beneficiosos para el ser vivo.(Colmeiro 1858)

## ***Género Chinchona***



**Ilustración 4-2:** Forma general del género Cinchona.

**Fuente:** Acosta 2019.

Este género de plantas también denominadas fanerógamas pertenecientes a la familia de las Rubiaceae posee especies no más de 25 y sus aspectos son de grandes arbustos o también denominados pequeños arboles los cuales pueden alcanzar no más de 15 metros de altura como se puede apreciar en la ilustración 4-2.

Los aspectos físicos a destacar son que tienen hojas opuestas, redondeadas y de una longitud de 1 a 4 decímetros, comúnmente sus flores son color beige o blanco, pero también existen especies que tienen de color rojo, ahora hablando de su fruto son generalmente como cápsulas los cuales contienen muchas semillas.

Este género fue nombrado por el famoso Carlos Linneo en honor al conde de Chinchón.(Colmeiro 1858)

### ***Permisos de recolección***

Con la finalidad de apoyar los procesos encaminados al uso, seguimiento y conservación de la biodiversidad a nivel nacional el Sistema Único de Información Ambiental-SUIA proporciona un documento con el objetivo de proporcionar la información necesaria para la operación del Sistema de Biodiversidad en su módulo de “Autorización de recolección de especímenes de especies de la diversidad biológica sin fines comerciales”.

Se registrará los datos en la siguiente página web: <http://suia.ambiente.gob.ec>, por consiguiente, registrará su solicitud y propuesta, en la opción “proyectos” y luego “solicitudes”, donde constará

de cuatro partes, los datos del estudiante, del tutor, del representante legal de la institución científica nacional de apoyo y el título de la investigación a desarrollar.

Luego se procederá a enviar junto con la propuesta de recolección de especímenes de especies, el componente a recolectar, la duración del proyecto, datos de la propuesta como el título, objetivos generales y específicos y las técnicas de laboratorio, metodología en el campo y en el laboratorio, equipos y materiales, el cronograma de actividades, los resultados esperados, presupuesto de la investigación, se guarda y finaliza la propuesta.

El trámite será enviado a revisión de autoridades y técnicos del Ministerio del Ambiente del Ecuador, durante este periodo el trámite podrá ser negado, observado o aceptado, en el caso de aceptación se cancela el monto de veinte dólares americanos y finalmente podrá descargarse el permiso.

## **2.2. Etnobotánica**

Una de las especies mencionadas previamente es utilizada de manera muy amplia en el tratamiento de un sin número de enfermedades como, por ejemplo:

- Trastornos cardiovasculares.
- Actividad antimicrobiana.
- Trastornos que se pueden suscitar en el post parto.

La forma más fácil de preparar es mediante decocción o a su vez por infusión.

Esta especie también es utilizada externamente en forma de sauna es decir por vapor para lo cual tenemos que tener en cuenta su efectividad en tratamientos relacionados con la piel, ojos e incluso dolores de cabeza y oído.(Dal-Souto Frescura et al. 2013)

Como ejemplo podemos tener en cuenta el uso de la *P. colorata* la cual en las amazonas en distintas tribus es utilizado de manera muy común para problemas relacionados con dolor de oído, incluso se ha visto efectiva en dolores abdominales. (Verotta et al. 1999)

En nuestro país también tienen uso este tipo de plantas de forma ancestral y medicinal incluso se ha visto caso que se ha usado de forma alimenticia, ciertas plantas y frutos son considerados en lo que previamente mencionamos que sería problemas con infecciones de piel, así mismo para tratar infecciones he incluso se ha visto efectiva en el tratamiento de lesiones en mucosas.

Tenemos también conocimientos que se han utilizado esta planta socialmente, pues en esta especie tenemos plantas que algunos *shamanes* la utilizan para curar el mal aire incluso con sus tradiciones se dice que otras plantas pueden ayudar a mejorar su suerte, es decir atraer nuevas vibras y recargar las energías.

### **2.3. Antioxidantes**

#### ***Antioxidantes naturales***

Los antioxidantes naturales son principalmente, los compuestos tanto alcaloides como fenoles. En general, los antioxidantes se pueden dividir en varios grupos diferentes en función de su estructura básica. Entre los naturales y más conocidos podemos encontrar a la vitamina C que su nombre científico es el ácido ascórbico y sus distintos derivados. (Amores, José, Benavides 2018)

Los tocoferoles, flavonoides y como no podían faltaron los fenoles también son dignos de estudio puesto que son los antioxidantes naturales más comúnmente utilizados en aplicaciones alimentarias, otros compuestos presentes de forma natural también con actividad antioxidante son carotenoides y compuestos nitrogenados como los alcaloides, aminoácidos y aminos, así como ciertas proteínas. (Avello, Suwalsky 2006)

#### ***Fuentes de antioxidantes***

Los antioxidantes naturales se encuentran presentes en numerosas fuentes del reino vegetal, como frutas, vegetales, etc.

Los más importantes, los materiales ligno - celulósicos provenientes de residuos agroalimentarios y forestales pueden ser también considerados como fuentes naturales de este tipo de antioxidantes, a pesar de tratarse de matrices previamente procesadas.

Diversas matrices de fuentes de antioxidantes naturales se investigaron, entre ellas cabe destacar los residuos de productos vegetales, los cuales resultaron contener una considerable concentración de polifenoles y sobre todo alcaloides que ayudan a retrasar la oxidación de las grasas. (Coronado H. et al. 2015)

Entre todas las matrices de fuentes de antioxidantes naturales, los tés constituyen una de las más importantes, no sólo en función del número de antioxidantes presentes en los mismos como se

puede apreciar en la figura 5 (principalmente compuestos poli-fenólicos y alcaloides) sino también por la capacidad antioxidante de éstos. (Almajano, Delgado, Gordon 2007)



**Ilustración 5-2:** Fuentes de antioxidantes.

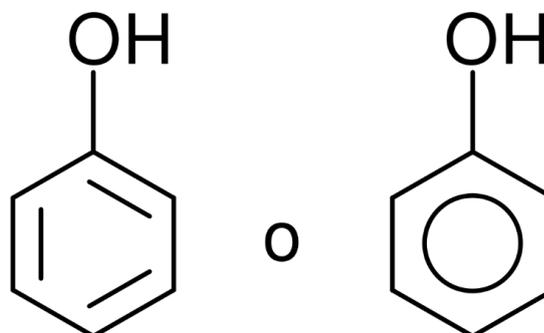
Fuente: Temrout, 2020.

## 2.4. Moléculas que otorgan la propiedad antioxidante

### 2.4.1. Grupo Fenol

Los fenoles son compuestos orgánicos aromáticos que por indiscutiblemente debe tener un grupo hidroxilo es decir un (OH\*) como grupo funcional de este compuesto, el grupo fenólico tiene una acidez demasiado débil, las concentraciones normalmente de este compuesto en planta es inferior a 1 µg/l.. (Peñarrieta et al. 2014)

De forma general podemos decir que el fenol puro se encuentra en estado sólido y tiene un color blanquecino, cosa muy contraria al fenol comercial puesto que el mismo se lo adquiere de forma líquida y su estructura es un anillo como se puede apreciar en la figura 1-6.



**Ilustración 6-2:** Estructura básica de un fenol.

Fuente: Weber et al, 2004-

Se puede acotar que los fenoles se forman y se obtiene por una oxidación parcial a la que es sometido el benceno y como es un compuesto aromático su aroma es agradable y dulce, en la tabla 1-1 realizaremos una identificación de las propiedades físicas del fenol.

**Tabla 1-2:** Propiedades físicas del Fenol.

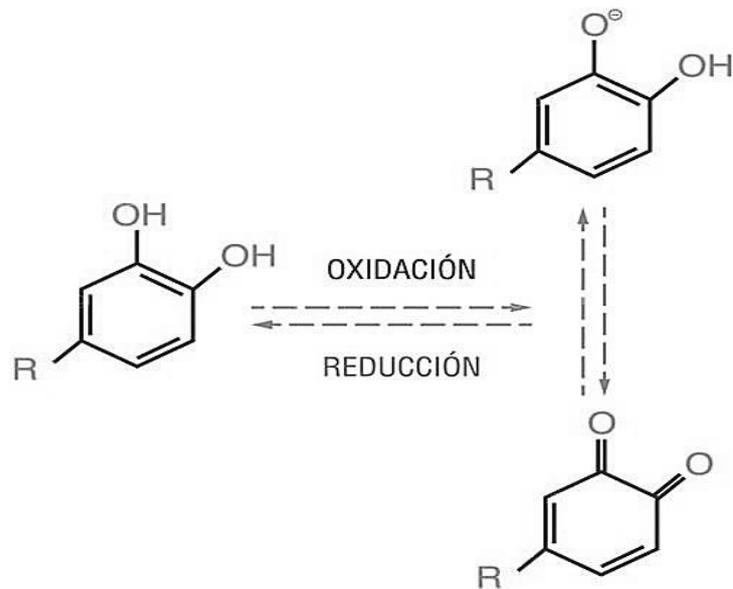
<b>Propiedades físicas.</b>	
Formula Química.	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH
Masa molecular.	94,1 g/mol
Punto de ebullición	182°C
Punto de fusión	43°C
Densidad relativa del líquido (agua = 1g/ml)	1,06
Solubilidad en agua (g/100 ml)	7
Solubilidad en agua	Moderada
Presión de vapor (Pa a 20°C)	47
Densidad relativa de vapor (aire = 1g/ml)	3,2
Densidad relativa de la mezcla vapor/aire a 20°C (aire = 1g/ml)	1,001
Punto de inflamación	79°C

**Realizado por:** Tasan Luis.

Varios fenoles tienen un papel demasiado importante en el tema de estrés oxidativo, es decir que son demasiado susceptibles a la oxidación, definiendo así como antioxidantes, estos compuestos presentaron una oxidación antes que otras especies con la finalidad de proteger de los distintos ataques oxidativos los cuales podemos apreciar a continuación y son los más comunes:

Radicales libres, luz, radiación, reacciones químicas, también cabe recalcar que algunas estructuras ya más complejas, pero aun pertenecientes al grupo de los fenoles tienen una capacidad demasiado importante la cual consigue recuperar su estado que ya se encuentra reducido por un equilibrio llamado “redox” como se aprecia en la figura 1-7.

Después de que se cumpla el proceso de oxidación pueden lograr recuperar su grupo hidroxilo para así conseguir nuevamente su actividad antioxidante con el fin de no orillar a la oxidación de distintos elementos que son de mucho interés como pueden ser las proteínas o azúcares de la planta.



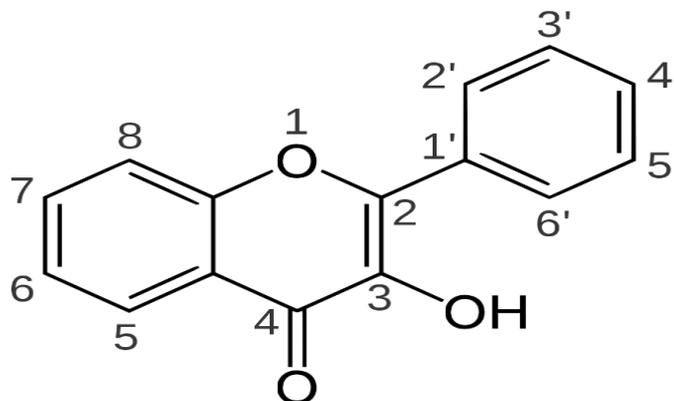
**Ilustración 7-2:** Equilibrio redox.

Fuente: Morrison, 2006

Podemos plantearnos otra situación para determinar el poder antioxidante cuantitativamente para lo cual se puede aplicar su potencial de reducción, el cual nos da el resultado en voltios y ahí se logra interpretar de manera correlacional puesto que mientras este negativo y más alejado del cero su actividad antioxidante es más fuerte. (Weber et al. 2004)

#### 2.4.2. Grupo dentro los Fenoles con mayor actividad antioxidante

Dentro del grupo de los fenoles la mayoría posee actividad antioxidante según bibliografía, pero el que más se ha estudiado dentro de este tema son los flavonoles el cual su estructura base podemos apreciar en la figura 8, pues es extendido dentro de la botánica, específicamente los flavonoles son los que pueden llegar a presentar mayor actividad antioxidante en comparación a otros.



**Ilustración 8-2:** Estructura de los flavonoles.

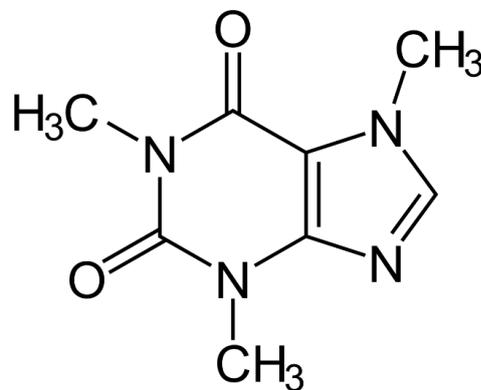
Fuente: Velazco, 2016

Estos compuestos también pueden otorgar propiedades distintas a la estudiada como puede ser una acción antiespasmódica, el cual hace referencia a la acción de evitar la contracción del musculo liso del intestino para así evitar dolores y sobre todo es una excelente alternativa para el tratamiento del síndrome de intestino irritable.

#### 2.4.3. Grupo alcaloide

Son compuestos orgánicos nitrogenados que se obtienen básicamente de las plantas, su estructura general es compleja, la mayoría por no decir su totalidad ejerce acciones farmacológicas, pero también se puede decir que en su mayoría son toxicas, en la figura 1-9 se puede apreciar la estructura base de los alcaloides.(Hu et al. 2016)

Se encuentra una gran distribución dentro del reino vegetal y más aún en las aéreas, generalmente se puede mencionar que hay algunos alcaloides que se encuentran de manera específica en cierta planta como tenemos el claro ejemplo de la cocaína que la encontramos en las hojas de coca y toma como denominación específico, pero también tenemos alcaloides que podemos encontrar en varias plantas y a esos de les denomina inespecíficos.(Hu et al. 2016)



**Ilustración 9-2:** Estructura de los alcaloides.

Fuente: Robinson, 2002

#### 2.4.4. Grupos o compuestos con mayor actividad antioxidante

Por lo general la especie Rubiaceae tiene acumulado un sin número de fenoles y alcaloides, los principales patrones que podemos sobresaltar es el Ácido ascórbico y Ácido gálico los cuales son los más estudiados según bibliografía y otorgan las propiedades antioxidantes a un sin número de plantas.

#### **2.4.5. Estudio de los alcaloides en base al compuesto Dimetilriptamina (DMT)**

Dimetilriptamina (DMT) La N,N-dimetilriptamina (DMT) es un alcaloide aminoindólico, una triptamina endógena de los mamíferos y varias plantas, incluidos varios géneros. (Carbonaro, Gatch 2016)

Esta molécula es interesante por su capacidad de producir alucinaciones visuales temporales e irregulares en altas concentraciones, así como por su presencia en diversas preparaciones chamánicas como la ayahuasca, la hoasca o el yagé, que han sido utilizadas por los indígenas durante siglos. Sur. America. Su uso como droga recreativa se ha informado recientemente en Europa y América del Norte. (Carbonaro, Gatch 2016)

La actividad alucinógena del DMT exógeno se debe a su afinidad por el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>2A</sub>. Sin embargo, esta teoría ha sido refutada por compuestos que carecen del efecto visual de la DMT y tienen una mayor afinidad por los receptores 5-HT<sub>2A</sub>, por lo que este mecanismo no explica completamente los efectos psicodélicos de la DMT. Se concluyó que los efectos alucinógenos de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> sobre los receptores DMT, 5-HT<sub>2C</sub> y 5-HT<sub>1A</sub>, así como los receptores ionotrópicos y metabotrópicos de glutamato, dopamina, acetilcolina, TAAR y sigma-1 son necesarios, pero no suficientes. Juega un papel importante. (Dean et al. 2019)

#### **2.4.6. Captación de radicales libres**

Los seres humanos poseen un sistema antioxidante de defensa que incluye antioxidantes endógenos (enzimáticos y no enzimáticos) y exógenos, siendo la dieta la principal fuente exógena.

El descubrimiento de nuevas fuentes antioxidantes podría detener el desarrollo de las enfermedades relacionadas a ROS y otros radicales libres. (Quevedo et al. 2003)

### **Tipos**

#### **Endógeno**

Los antioxidantes endógenos incluyen vías enzimáticas y no enzimáticas. Las enzimas antioxidantes más importantes son el superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y el glutatión peroxidasa (GSH-Px). SOD convierte el anión superóxido en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que CAT descompone en agua y oxígeno, evitando así la formación de radicales hidroxilos. GSH-Px, por otro lado, libera peróxidos y grupos hidroxilo al oxidar el glutatión reducido (GSH) a disulfuro

de glutatión, que luego es reducido por el glutatión reductasa a GSH. base lo convierte en una forma no tóxica.

Otras enzimas antioxidantes incluyen glutatión-S-transferasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Por el contrario, los antioxidantes no enzimáticos son moléculas que interactúan con especies reactivas de oxígeno e interrumpen las reacciones en cadena de los radicales libres, siendo los más destacados la bilirrubina, el alfa-tocoferol (vitamina E), el betacaroteno, la albúmina y el ácido úrico. 85% de capacidad antioxidante en plasma. (Liguori et al. 2018)

## **Exógeno**

Los antioxidantes exógenos incluyen el ácido ascórbico (vitamina C), que elimina los grupos hidroxilo y los aniones superóxido, el alfa-tocoferol (vitamina E), que promueve la peroxidación lipídica en las membranas celulares, y los antioxidantes fenólicos, incluidos los derivados del estilbeno (veratrol blanco, ácidos fenólicos y flavonoides), lecitina oleosa, selenio, zinc y acetilcisteína. (Liguori et al. 2018)

### **2.5. Mecanismos de acción**

Se han propuesto dos mecanismos principales de acción de los antioxidantes. El primero es un mecanismo de escisión de cadena en el que el antioxidante principal dona electrones a los radicales libres para su estabilización.

El segundo mecanismo implica la eliminación de iniciadores de ROS/especies de nitrógeno reactivo mediante la desactivación de catalizadores iniciados en cadena. Los antioxidantes pueden afectar los sistemas biológicos a través de una variedad de mecanismos, que incluyen la donación de electrones, la quelación de iones metálicos, los co-antioxidantes o la regulación de la expresión génica. (Lobo et al. 2010)

### **2.6. Determinación de captadores de radicales libres**

Para la comunidad científica, la producción y detección de ROS no ha sido fácil debido a la complejidad de sus reacciones; puesto que definir el tipo de especies químicas presentes en un punto determinado de la reacción es complicado. Este hecho incrementa la complejidad experimental y plantea el desarrollo de varios sistemas o métodos que permitan conocer con certeza el comportamiento de las ROS para el descubrimiento de sustancias capaces de inhibirlas. (Greenwald 2018)

## 2.7. Otras propiedades de la especie Rubiaceae con fines terapéuticos.

### *Actividad antimicrobiana.*

Se realizó estudios donde específicamente la planta fue *Farema occidentalis*, perteneciente a la familia Rubiaceae la cual presento actividad antimicrobiana en su extracto seco frente a *Salmonella* y *Bacillus*, con una concentración de disco a 1240 µg/disco.

En la especie *Uncaria Tomentosa*, tuvo un resultado favorable puesto que evaluó el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, lo cual es un punto favorable en el estudio de esta familia puesto que contiene varios metabolitos los cuales podemos apreciar en la tabla que el humano puedo usarlos a su favor.(Vega, Guzmán 2021b)

**Tabla 2-2:** Grupos químicos más importantes con actividad antimicrobiana

Grupo químico.	Compuestos más efectivos	Actividad.
Fenoles.	Timol, ácido antémico, terpenoide	Antimicrobiana.
Taninos.		Antimicrobiana y antiviral.
Alcaloides.	Piperina, coca y mescalina	Antimicrobiana.

Realizado por: Tasan Luis. 2022.

### *Actividad antiinflamatoria*

En esta actividad tenemos específicamente al género *Palicourea*, el cual presenta propiedades que ayudan en la inflamación (edemas), el estudio realizado por Samara et al. 2019 demostró que tiene esta actividad realizando experimentación en ratos los cuales fueron inducidos a una inflamación gracias a la carragenina y luego de aplicar el extracto hidroalcohólico fueron mejorando significativamente.(Vega, Guzmán 2021b)

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1. Lugar de investigación

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

#### 3.2. Tipo y diseño de la investigación

La investigación propuesta es de tipo correlacional y el diseño de investigación experimental, basado en la evaluación de la actividad antioxidante de las 5 plantas Rubiaceae previamente mencionadas, en las cuales se utilizará los métodos mencionados, y los resultados serán expresados de manera cuantitativa.

#### 3.3. Población de estudio y/o tamaño de muestra y/o método de muestreo

La población de estudio fueron las 5 plantas de la familia Rubiaceae que son: *Palicourea pilosa*, *Palicourea amethystina*, *Palicourea sulfúrea*, *Psychotria stenostachya* y *Cinchona sp.* La recolección del material vegetal se realizó en el Ecuador, mediante un muestreo aleatorio simple para obtener aproximadamente 500 g de las diferentes especies vegetales.

Para la recolección del material vegetal se tomarán en cuenta los siguientes criterios:

##### 3.3.1. Criterios de inclusión

Las mejores fracciones de las hojas de las distintas plantas de la familia Rubiaceae que presenten buen estado, preferentemente ápices de hojas con superficies y bordes íntegros.

##### 3.3.2. Criterios de exclusión

Toda planta incluyendo las hojas que presenten daños por acción de animales o insectos, ejemplares que presenten deterioro por agua o viento. Plantas que se encuentren en proceso de descomposición o con contaminación microbiológica, se incluye aquí tallos, vainas, nudos, yemas axilares y entrenudos.

### 3.4. Equipos, materiales y reactivos

#### 3.4.1. Equipos

Estufa de convección natural RedLine by Binder	Molino de cuchillas Arthur H. Thomas C.O	balanza de precisión HDM	estufa Memmert SNB400
balanza analítica HDM	sonicador	rotavapor Heidolph®	sorbona
pH-metro	termoagitador magnético Thermo Scientific™	mezclador de vórtice	termómetro digital
micropipeta multicanal F1-Clip Tip Thermo Scientific™	refrigerador General Electric®	congelador General Electric®	lector de microplacas Thermo Scientific™

#### **Ilustración 1-3:** Equipos a utilizar

Realizado por: Tasan, Luis. 2022.

#### 3.4.2. Materiales

Microplacas de 96 pocillos CITOTEST®.

### 3.4.3. Reactivos

éter dietílico	etanol 96%	metanol absoluto	éter de petróleo
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NH <sub>4</sub> OH	goma arábica	sulfato de sodio anhidro	agua destilada
	Trietilamina, 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH*)	metosulfato de fenazina (PMS, ≥90% UV)	

#### Ilustración 2-3: Reactivos

Realizado por: Tasan Luis. 2022.

- Compuestos de referencia:

Ácido ascórbico (> 99 % TLC) adquiridos en Sigma Aldrich Chemical Co. (USA).	Ácido gálico (> 99 % TLC) adquiridos en Sigma Aldrich Chemical Co. (USA).
--	---

#### Ilustración 3-3: Compuestos de referencia

Realizado por: Tasan Luis. 2022.

### 3.5. Técnicas y métodos

#### 3.5.1. Acondicionamiento de la materia vegetal

Se realizó la limpieza del material vegetal y se desecó a una temperatura de 35°C en una estufa de convección natural durante 48 horas. Se trituroó la muestra en un molino de cuchillas, para la obtención de un tamaño de partícula aproximado de 2-3mm.

El material seco fue conservado en bolsas de papel a 25°C en condiciones de oscuridad hasta su posterior análisis.

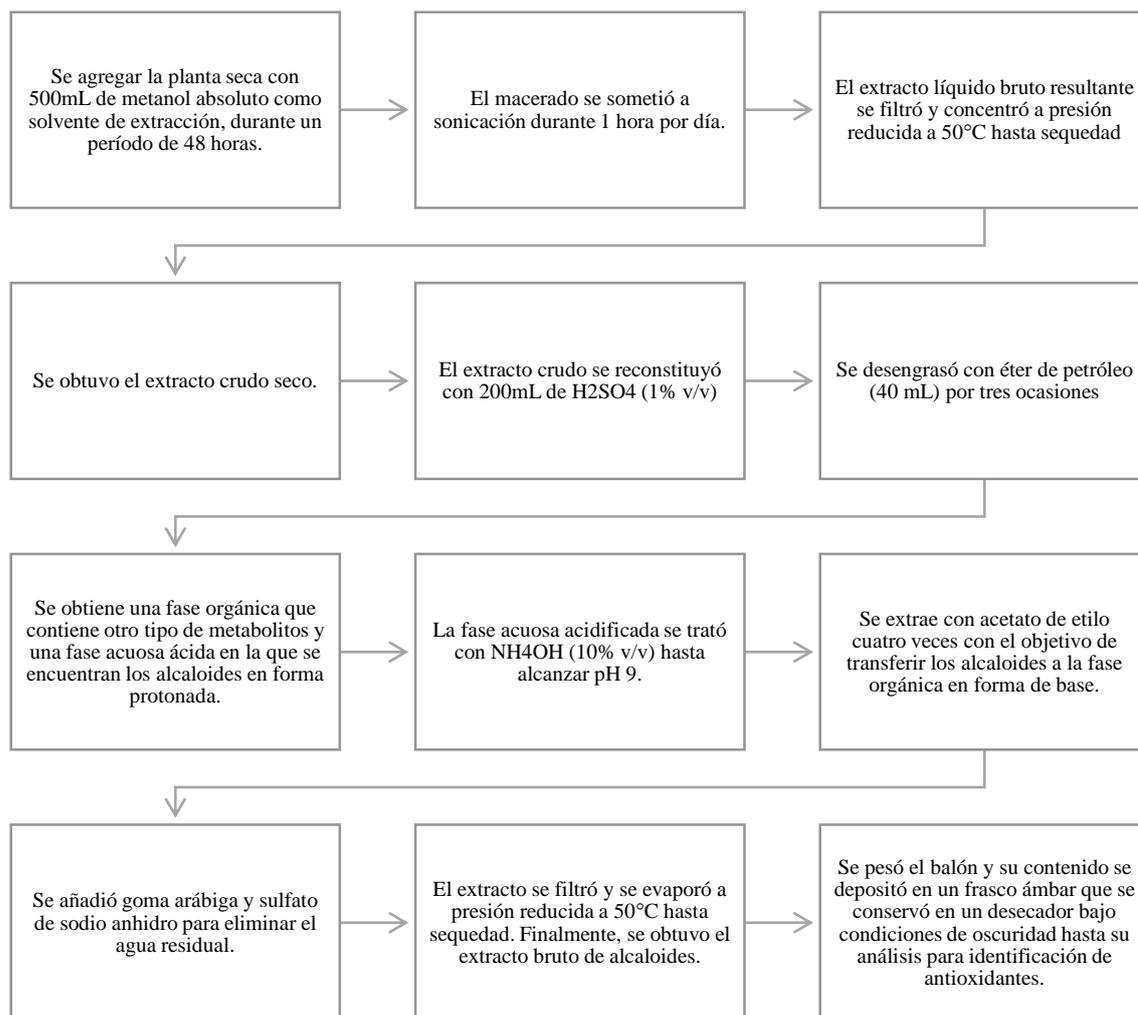
### **3.5.2. *Control de calidad***

El control de calidad del material vegetal se realizó mediante los procedimientos descritos por Miranda et al. (1992, pp. 31-45).

A partir de 2 g de material vegetal seco en polvo, se calculó la humedad higroscópica como pérdida de masa en % p/p. El contenido total de cenizas se obtuvo calentando a 600°C, y luego el contenido de cenizas solubles en agua y el contenido de cenizas insolubles en ácido clorhídrico se determinaron por el método gravimétrico. El procedimiento se realizó 3 veces.

### **3.6. Extracción del extracto para alcaloides**

Se realizaron cinco extracciones a partir de 50g de planta seca de las 5 plantas seleccionadas.



### **Ilustración 4-3:** Proceso de extracción de extractos

**Realizado por:** Tasan Luis. 2022.

### **3.7. Método DPPH\***

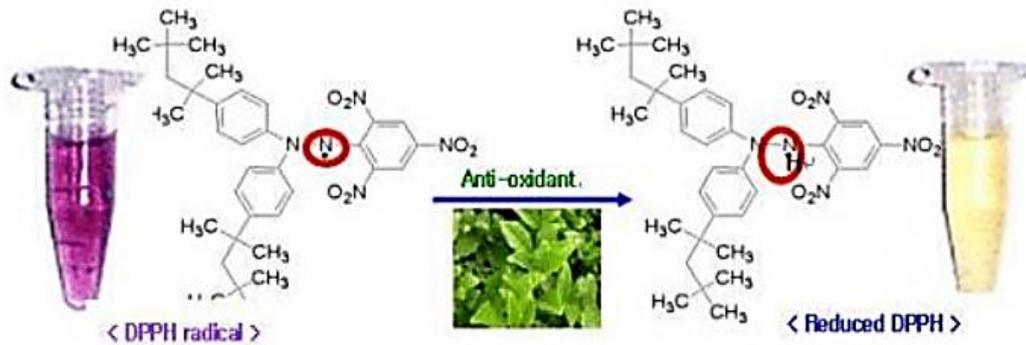
DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) fue propuesto por Blois en 1958 y se usa ampliamente para determinar la actividad antioxidante de plantas, frutas, verduras, productos botánicos, verduras, café, etc. Contiene métodos de eliminación de radicales libres.

Su fundamento se basa en la aceptación de electrones o hidrógeno de la molécula de 2,2-difenil-1-picrilhidrazina, que tiene un color púrpura oscuro en solución de metanol.

Este estudio requirió un espectrofotómetro para medir la absorbancia cuando se receptan electrones a una longitud de onda de 517 nm. Allí, la solución de DPPH reaccionó con un sustrato antioxidante capaz de generar átomos de hidrógeno, y el color púrpura presente en la solución

inicial fue de púrpura a amarillo, lo que indica que hubo agotamiento de radicales libres por parte del antioxidante.

El color amarillo es indicativo de la propiedad química antioxidante de la muestra analizada. (Galvez Rivas, Zaldaña Burgos 2020)



**Ilustración 5-3:** Cambio de color por presencia de antioxidantes en los distintos compuestos

Fuente: Ruiz, 2020.

Para realizar este método, primero debe preparar una solución estándar de 2 mg de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo en 100 ml de metanol de grado analito como estándar de referencia.

Se utiliza una solución stock a diferentes concentraciones:

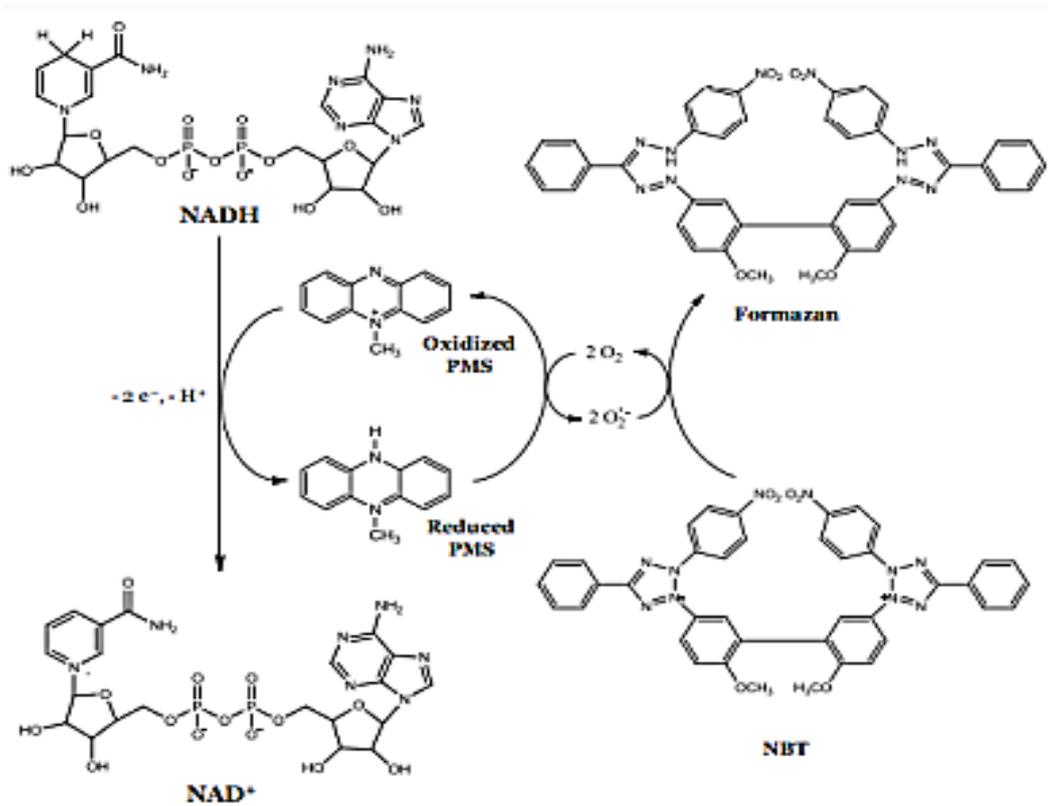
**Tabla 1-3:** Concentraciones a trabajar en el método DPPH\*

Concentración.
0,25
0,50
1,50
2,50
3,50
5,00

Realizado por: Tasan Luis. 2022.

Finalmente, el plato tiene un fondo morado con manchas amarillas o pálidas ocasionales. Mostró actividad antioxidante. El ácido ascórbico como presenta actividad antioxidante se utiliza como compuesto de referencia.

### 3.8. Sistema NADH/metosulfato de fenazina/NBT



**Ilustración 6-3:** Representación esquemática de la reducción de NBT inducida por  $O^*$ , gracias al sistema NADH/PMS

**Realizado por:** Tasan Luis. 2022.

Este método fue introducido por primera vez en 1957 por el bioquímico británico A. Pearse para la detección histoquímica de la actividad deshidrogenasa. Sin embargo, se están desarrollando nuevas aplicaciones de esta técnica para la búsqueda de antioxidantes.

La cuantificación de la actividad captadora de ROS a través de este sistema de reacción no enzimático es posible gracias a la producción de radical superóxido a partir de metosulfato de fenazina y nicotin adenin dinucleótido (PMS/NADH) que reduce el nitroazul de tetrazolio (NBT) a un formazán de color Carbonaro y Gatch, 2016.

Las concentraciones que se utilizarán en este método serán de:

**Tabla 2-3:** Concentraciones trabajadas en el método NADH/metosulfato de fenasina/NBT

Concetración.
8,00
12,00
16,00
32,00
48,00

**Realizado por:** Tasan Luis. 2022.

El mecanismo fundamental de este ensayo se basa en la reducción del metosulfato de fenazina (PMS) por parte de la coenzima NADH, lo que provoca la generación de radical superóxido cuyos electrones son transferidos a la sal de tetrazolio como aceptor final produciendo un formazán púrpura insoluble en agua.

### 3.9. Tamizaje fitoquímico.

Para determinar la presencia de alcaloides se realizó las pruebas más aplicadas según bibliografía las cuales mencionaremos a continuación.

#### *Ensayo de Dragendorff*

Esta prueba o ensayo técnicamente se utiliza para determinar la presencia o ausencia de alcaloides y es la más utilizada en extractos naturales. El fundamento teórico consiste en que el reactivo va lograr la protonación de nitrógeno es decir la adición de un protón, esto se debe a la acidez del reactivo y como resultado si se produce una coloración roja intensa la interpretación es que el extracto tiene presencia de alcaloides.

Esta prueba fue realizada a los 5 extractos obtenidos de las distintas plantas de estudio el cual el arrojo los siguientes resultados como lo podemos apreciar en la Tabla 2-3.

**Tabla 3-3:** Ensayo de Dragendorff

Extracto de las plantas utilizadas	Resultado de la prueba.
<i>Palicourea pilosa</i>	++
<i>Palicourea amethystina</i>	++
<i>Palicourea sulfúrea</i>	++
<i>Psychotria stenostachya</i>	++
<i>Cinchona sp</i>	+++

+++; Reacción de gran intensidad, ++; Reacción de mediana intensidad, +; Reacción de baja intensidad; -; No detectado

**Realizado por:** Luis Tasan, 2022

Como podemos apreciar el resultado obtenido en los 5 extractos fueron positivos por ende podíamos continuar con el estudio de las plantas para ver su actividad antioxidante.

### ***Ensayo de Mayer.***

Este ensayo es una caracterización no específica en la búsqueda de alcaloides en los extractos sobre todo en los de origen natural, su fundamento se basa cuando el nitrógeno que se encuentra dentro de los alcaloides permite la formación de un enlace covalente y a su vez la formación de un ion metálico, dándonos como resultado un precipitado ya sea amarillo o blanco cristalino.

Esta prueba fue realizada a los 5 extractos obtenidos de las distintas plantas de estudio el cual el arrojó los siguientes resultados como lo podemos apreciar en la Tabla 2-4.

**Tabla 4-3:** Ensayo de Mayer

Extracto de las plantas utilizadas	Resultado de la prueba.
<i>Palicourea pilosa</i>	++
<i>Palicourea amethystina</i>	++
<i>Palicourea sulfúrea</i>	++
<i>Psychotria stenostachya</i>	++
<i>Cinchona sp</i>	+++

+++; Reacción de gran intensidad, ++; Reacción de mediana intensidad, +; Reacción de baja intensidad; -; No detectado

**Realizado por:** Luis Tasan, 2022

Los resultados obtenidos nos confirmaron la presencia de alcaloides en todos los extractos que hicimos reaccionar al ensayo de Mayer, con la segunda prueba y dando positivo el resultado íbamos confirmando la presencia de alcaloides en los distintos extractos de las 5 plantas puestas en estudio.

### ***Ensayo de Wagner.***

La reacción es de tipo orgánica, donde el resultado nos da un color marrón, este principio se debe a que gracias a las propiedades de los alcaloides y a su nitrógeno dentro de su estructura tiende a combinarse con metales pesados en este caso el Yodo.

Esta prueba fue realizada a los 5 extractos obtenidos de las distintas plantas de estudio el cual los arrojó los siguientes resultados como lo podemos apreciar en la Tabla 2-5.

**Tabla 5-3:** Ensayo de Wagner.

Extracto de las plantas utilizadas	Resultado de la prueba.
<i>Palicourea pilosa</i>	++
<i>Palicourea amethystina</i>	++
<i>Palicourea sulfúrea</i>	++
<i>Psychotria stenostachya</i>	++
<i>Cinchona sp</i>	+++

+++; Reacción de gran intensidad, ++; Reacción de mediana intensidad, +; Reacción de baja intensidad; -; No detectado

**Realizado por:** Luis Tasan, 2022

Tras realizar los 3 ensayos que bibliografía nos recomienda para determinar la presencia de alcaloides y siendo afirmativos los 3 podemos asegurar que los extractos contienen alcaloides.

## CAPÍTULO IV

### 4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1. Extracto seco de las 5 plantas de estudio.

Después de haber obtenido el extracto al 70%, se eliminó el etanol en rotavapor hasta la obtención del extracto seco con mayor estabilidad. A partir de 200 g de droga vegetal molida en forma de polvo fino homogéneo, se obtuvo 4,3 g de extracto seco, del que se utilizó 0,7 g para las distintas mediciones con los diferentes reactivos.

#### 4.2. Uso del ácido ascórbico como patrón de referencia para el método DPPH.

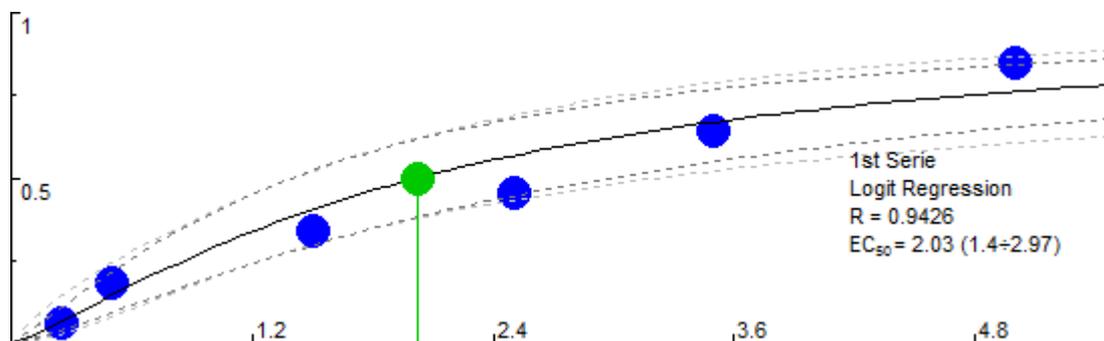
El ácido ascórbico es un nutriente que necesita el cuerpo humano en pequeñas cantidades para funcionar bien y estar saludable. Como antioxidante, el ácido ascórbico ayuda a prevenir el daño celular causado por los radicales libres.

**Tabla 1-4:** Resultados del patrón de referencia (Ácido ascórbico).

Concentración, $\mu\text{g/mL}$	Captación de radical libre, (%)
0,25	6,34 $\pm$ 0,86
0,50	18,21 $\pm$ 1,02
1,50	33,68 $\pm$ 0,99
2,50	45,66 $\pm$ 0,82
3,50	64,15 $\pm$ 0,28
5,00	84,72 $\pm$ 0,30

Los valores representan el promedio  $\pm$  desviación estándar de n=3.

**Realizado por:** Tasan Luis, 2022



**Ilustración 1-4:** Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC<sub>50</sub> de ácido ascórbico.

**Realizado por:** Tasán Luis, 2022.

### 4.3. Resultado del extracto de *Palicourea pilosa* para la captación de radicales libres en el método DPPH.

Una vez realizadas todas las lecturas de los ensayos propuestos se procede a la tabulación para obtener los valores de la capacidad de captación en porcentaje arrojando los siguientes datos que se señala en la Tabla 3-2.

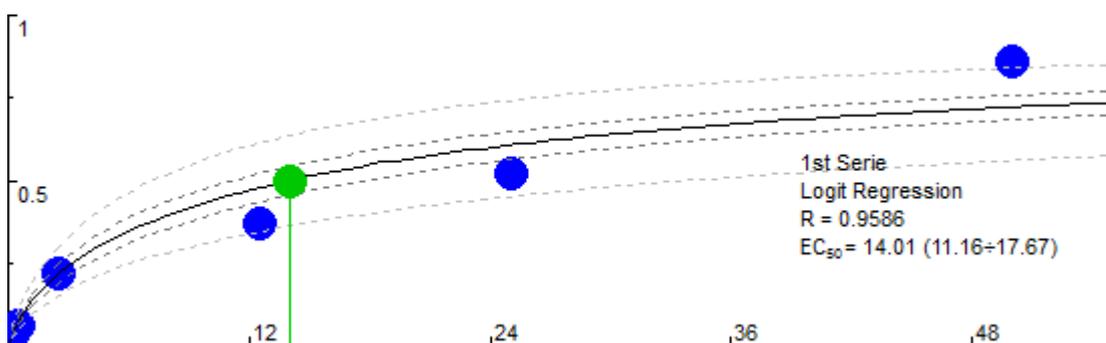
**Tabla 2-4:** Valores del ensayo DPPH para *Palicourea pilosa*.

Concentración, $\mu\text{g/mL}$	<i>P. pilosa</i>
0,05	1,854 $\pm$ 0.69
0,25	3,146 $\pm$ 0.87
0,5	5,926 $\pm$ 0.96
2,5	21,900 $\pm$ 0.84
12,5	37,259 $\pm$ 0.68
25	52,323 $\pm$ 0.54
50	85,877 $\pm$ 0.63

Los valores representan el promedio  $\pm$  desviación estándar de n=3.

**Realizado por:** Tasán Luis, 2022

Se realizó distintas mediciones para determinar que valores se acoplen de mejor manera al patrón de referencia previamente definido. Existe una actividad que si bien no es tan pronunciada nos da un resultado positivo para lo cual se determinó el modelo logarítmico para realizar una discusión.



**Ilustración 2-4:** Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 de *Palicourea pilosa*.

**Realizado por:** Tasán Luis, 2022.

Como podemos observar en el Gráfico 3-2, el EC50 que se determinó para la solución patrón que en este caso es el ácido ascórbico es inferior al del extracto de *Palicourea pilosa*, lo que refleja que la solución patrón tiene una mayor capacidad de captación con respecto al extracto.

#### 4.4. Resultado del extracto de *Palicourea amethystina* para la captación de radicales libres en el método DPPH.

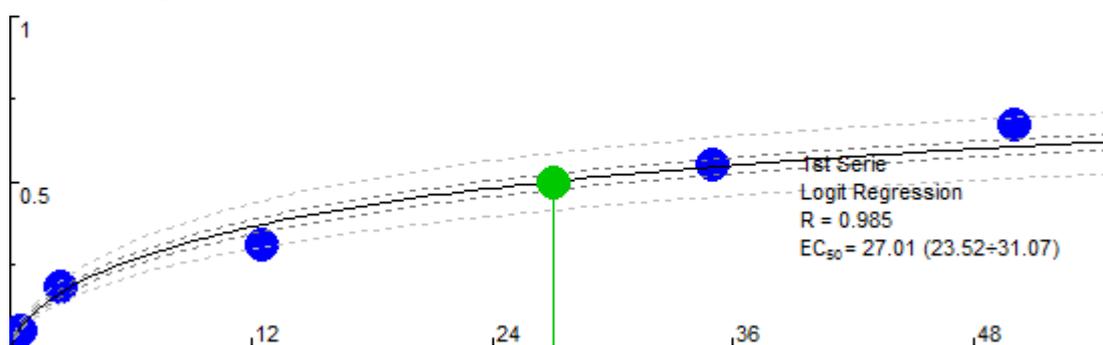
Una vez realizadas todas las lecturas de los ensayos propuestos se procede a la tabulación para obtener los valores de la capacidad de captación en porcentaje arrojando los siguientes datos que se señala en la Tabla 3-3.

**Tabla 3-4:** Valores del ensayo DPPH para *Palicourea amethystina*.

Concentración, µg/mL	<i>P. amethystina</i>
0,025	0,926±0.95
0,05	1,529±0.98
0,25	2,594±1.08
0,5	4,888±1.11
2,5	18,063±1.48
12,5	30,730±1.68
35	54,897±1.70
50	67,333±1.86

Realizado por: Luis Tasan, 2022

Se realizó distintas mediciones para determinar que valores se acoplen de mejor manera al patrón de referencia previamente definido. Existe una actividad que si bien no es tan pronunciada es mejor que el extracto previamente analizado, su resultado es positivo para lo cual se determinó el modelo logarítmico para realizar una discusión.



**Ilustración 3-4:** Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 de *Palicourea amethystina*.

Realizado por: Tasán Luis, 2022.

Como podemos observar en el Gráfico 3-3, el EC50 que se determinó para la solución patrón que en este caso es el ácido ascórbico es inferior al del extracto de *Palicourea amethystina*., lo que refleja que la solución patrón tiene una mayor capacidad de captación con respecto al extracto.

En comparación de extractos entre *Palicourea pilosa* y *Palicourea amethystina* determinando el IC50 podemos afirmar que la capacidad de captación de *P. amethystina* es mucho mejor que la de *P. pilosa*, ya que el IC50 se encuentra muy por debajo con esto concluimos que mejor actividad antioxidante tiene la del extracto de *Palicourea amethystina*.

#### 4.5. Resultado del extracto de *Palicourea sulphurea* para la captación de radicales libres en el método DPPH.

Una vez realizadas todas las lecturas de los ensayos propuestos se procede a la tabulación para obtener los valores de la capacidad de captación en porcentaje arrojando los siguientes datos que se señala en la Tabla 3-4.

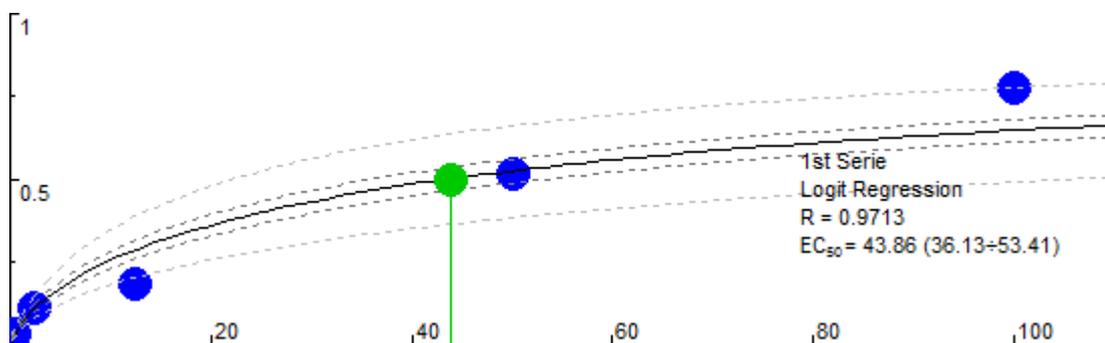
**Tabla 4-4:** Valores del ensayo DPPH para *Palicourea sulphurea*.

Concentración, µg/mL	<i>P. sulphurea</i>
0,025	0,550±0.75
0,05	0,907±0.86
0,25	1,540±0.91
0,5	2,901±0.89
2,5	10,720±0.99
12,5	18,238±1.12
50	51,547±1.08
100	77,453±1.09

Los valores representan el promedio ± desviación estándar de n=3.

**Realizado por:** Luis Tasan, 2022

Se realizó distintas mediciones para determinar que valores se acoplen de mejor manera al patrón de referencia previamente definido. Existe una actividad que si bien no es tan pronunciada nos da un resultado positivo para lo cual se determinó el modelo logarítmico para realizar una discusión.



**Ilustración 4-4:** Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 de *Palicourea sulphurea*.

**Realizado por:** Tasán Luis, 2022.

Como podemos observar en el Gráfico 3-4, el EC50 que se determinó para la solución patrón que en este caso es el ácido ascórbico es inferior al del extracto de *Palicourea sulphurea*, lo que refleja que la solución patrón tiene una mayor capacidad de captación con respecto al extracto.

En comparación de extractos entre *Palicourea pilosa*, *Palicourea amethystina* y *Palicourea sulphurea* determinando el IC50 podemos afirmar que la capacidad de captación de *P. pilosa* es mucho mejor que la de *P. amethystina* y *P. sulphurea* ya que el IC50 se encuentra muy por debajo y es el que se me acerca a la de la solución patrón, con esto concluimos que mejor actividad antioxidante tiene la del extracto de *Palicourea pilosa* en comparación a los otros extractos.

#### 4.6. Resultado del extracto de *Psychotria stenostachya* para la captación de radicales libres en el método DPPH.

Una vez realizadas todas las lecturas de los ensayos propuestos se procede a la tabulación para obtener los valores de la capacidad de captación en porcentaje arrojando los siguientes datos que se señala en la Tabla 3-5.

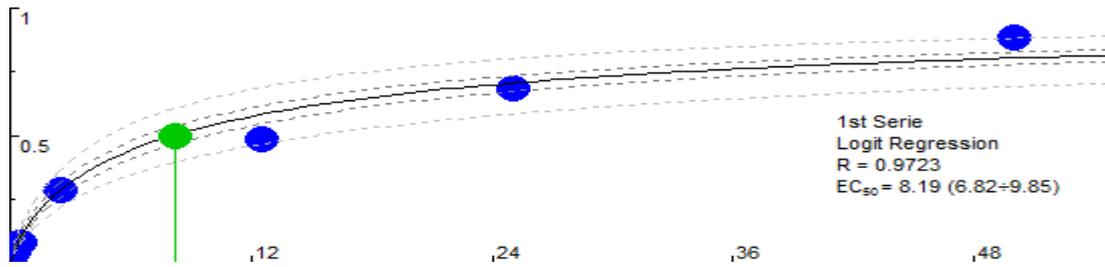
**Tabla 5-4:** Valores del ensayo DPPH para *Psychotria stenostachya*.

Concentración, µg/mL	<i>P. stenostachya</i>
0,025	1,460±1.11
0,05	2,409±1.08
0,25	4,089±1.16
0,5	7,703±0.89
2,5	28,467±0.98
12,5	48,430±1.15
25	68,655±1.54
50	88,432±0.94

Los valores representan el promedio ± desviación estándar de n=3.

**Realizado por:** Luis Tasan, 2022

Se realizó distintas mediciones para determinar que valores se acoplen de mejor manera al patrón de referencia previamente definido. Existe una actividad que si bien no es tan pronunciada nos da un resultado positivo para lo cual se determinó el modelo logarítmico para realizar una discusión.



**Ilustración 5-4:** Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 de *Psychotria stenostachya*.

**Realizado por:** Tasán Luis, 2022.

Como podemos observar en el Gráfico 3-5, el EC50 que se determinó para la solución patrón que en este caso es el ácido ascórbico es inferior al del extracto, pero es un valor muy cercano de *Palicourea stenostachya*, lo que refleja que la solución patrón tiene una mayor capacidad de captación con respecto al extracto.

En comparación a los extractos del género *Palicourea* determinando el IC50 podemos afirmar que la capacidad de captación de *P. stenostachya* es mucho mejor a las demás, ya que el IC50 se encuentra bajo y muy cercano a la de la solución patrón.

#### 4.7. Resultado del extracto de *Cinchona sp* para la captación de radicales libres en el método DPPH

Una vez realizadas todas las lecturas de los ensayos propuestos se procede a la tabulación para obtener los valores de la capacidad de captación en porcentaje arrojando los siguientes datos que se señala en la Tabla 3-6.

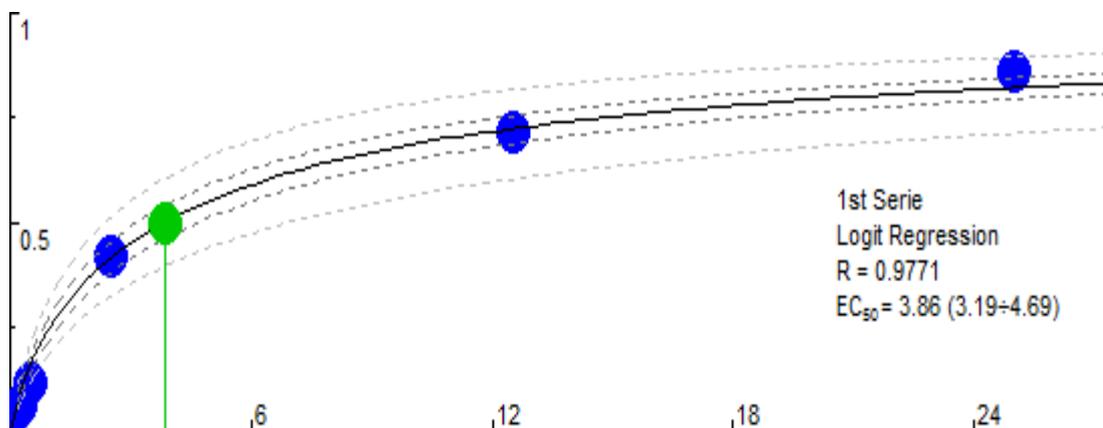
**Tabla 6-4:** Valores del ensayo DPPH para *Cinchona sp*.

Concentración, µg/mL	<i>Cinchona sp.</i>
0,025	2,159±0.67
0,05	3,564±0.84
0,25	6,048±0.71
0,5	11,394±0.92
2,5	42,110±0.95
12,5	71,640±0.87
25	86,284±1.12

Los valores representan el promedio ± desviación estándar de n=3.

**Realizado por:** Tasan Luis, 2022

Se realizaron varias mediciones para ver cuáles eran las más efectivas dentro de los rangos preestablecidos, ahora se procedió a realizar la concentración eficaz media y se grafica para realizar una comparación a su patrón.



**Ilustración 6-4:** Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 de *Cinchona sp.*

Realizado por: Luis Tasán, 2022.

Como podemos observar en el Gráfico 3-6, el EC50 que se determinó para la solución patrón que en este caso es el ácido ascórbico es casi similar al del extracto de *Cinchona sp*, lo que refleja que la solución patrón tiene una mayor capacidad de captación con respecto al extracto la cual no es tan lejana.

En comparación a los extractos del género *Palicourea* determinando el EC50 podemos afirmar que la capacidad de captación de *Cinchona sp* es mucho mejor a la del género *Palicourea*, ya que el EC50 se encuentra bajo y se podría decir que prácticamente similar a la solución patrón.

#### **4.8. Uso del ácido gálico como patrón para determinar la inhibición de la formación de un radical superóxido**

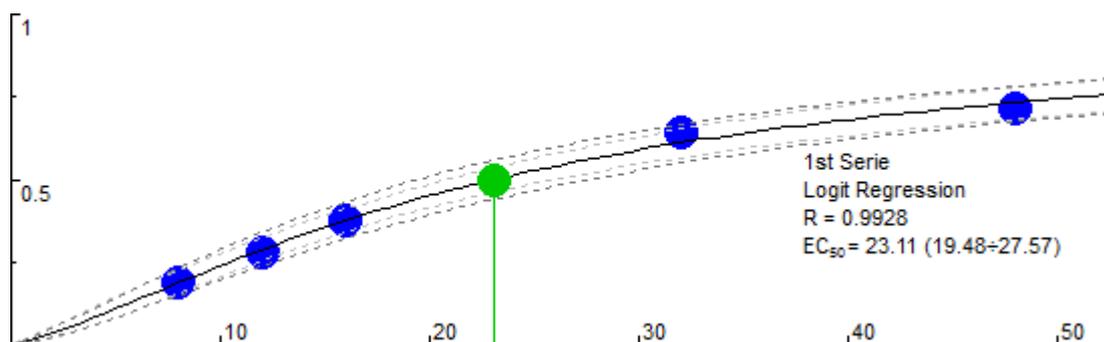
El ácido gálico es un ácido trihidroxibenzoico natural, es un astringente, un inhibidor de la ciclooxigenasa 2, un antioxidante, un agente antineoplásico, un inhibidor débil de la anhidrasa carbónica, un inductor de apoptosis, por lo cual fue optado para usar como patrón ya que tiene un comportamiento muy efectivo en formación de radical superóxido por lo previamente mencionado.

**Tabla 7-4:** Resultados del patrón de referencia (Ácido gálico).

Concentración, µg/mL	Ácido gálico
8,00	18,97±0.96
12,00	27,63±1.98
16,00	37,58±1.96
32,00	64,16±0.62
48,00	71,49±0.42

Los valores representan el promedio ± desviación estándar de n=3.

**Realizado por:** Tasan Luis, 2022



**Ilustración 7-4:** Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 de ácido gálico.

**Realizado por:** Tasán Luis, 2022.

Se realizó la concentración eficaz media como se puede apreciar en el grafico 3-7, para tener un dato sigiloso y base para los próximos extractos que ayudarían a determinar si tienen una inhibición.

#### 4.9. Inhibición de la formación de radical superóxido por la fracción alcaloidal de *Palicourea pilosa*

En este método se tomaron varias lecturas acordes a la formación de radical superóxido para tener un resultado y así poder realizar la concentración efectiva media en comparación a su patrón que en este caso es el ácido gálico y aquellos resultados se verán reflejados en la Tabla 3-8.

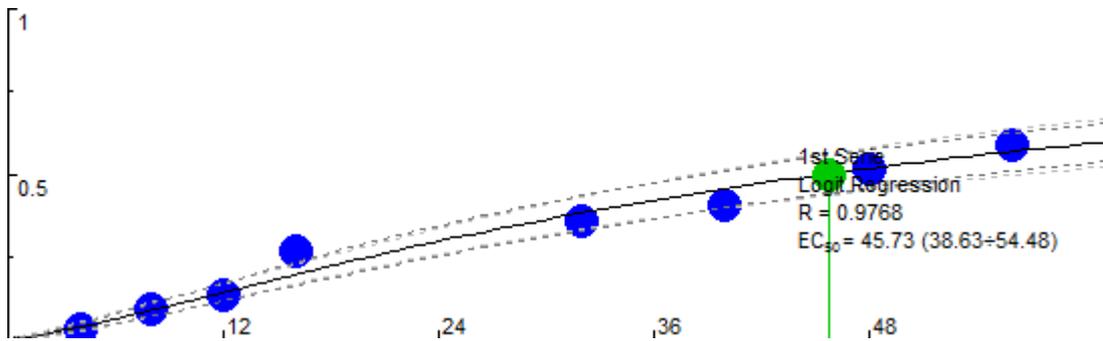
**Tabla 8-4:** Valores del ensayo NADH/PMS/NBT para *Palicourea pilosa*.

Concentración, µg/mL	<i>P. pilosa</i> , % inhibición de radical superóxido
4	3,141±0.89
8	9,267±0.78
12	13,105±0.92
16	26,930±0.81
32	35,690±0.84
40	40,324±1.08
48	51,355±1.12
56	58,736±0.90

Los valores representan el promedio ± desviación estándar de n=3.

**Realizado por:** Tasan Luis, 2022

Las distintas lecturas que se hicieron fueron acorde a resultados que nos iba otorgando el espectrofotómetro para lo cual se obtuvieron datos selectivos para realizar la EC50.



**Ilustración 8-4:** Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 del extracto de la planta *Palicourea pilosa*.

Realizado por: Tasán Luis, 2022.

Como se puede apreciar luego de realizar la EC50 se puede determinar que el extracto obtenido de la planta *Palicourea pilosa* no tiene un resultado favorable en comparación al de su patrón que es el ácido gálico como se puede apreciar en el Gráfico 3-8, aunque si existe una actividad no es tan elevada y es un resultado afirmativo puesto que estos deben ir en concordancia con el método DPPH, ya que los dos nos permite determinar de cierto modo la actividad antioxidante.

#### 4.10. Inhibición de la formación de radical superóxido por la fracción alcaloidal de *Palicourea amethystina*

En este método se tomaron varias lecturas acordes a la formación de radical superóxido para tener un resultado y así poder realizar la concentración efectiva media en comparación a su patrón que en este caso es el ácido gálico y aquellos resultados se verán reflejados en la Tabla 3-9.

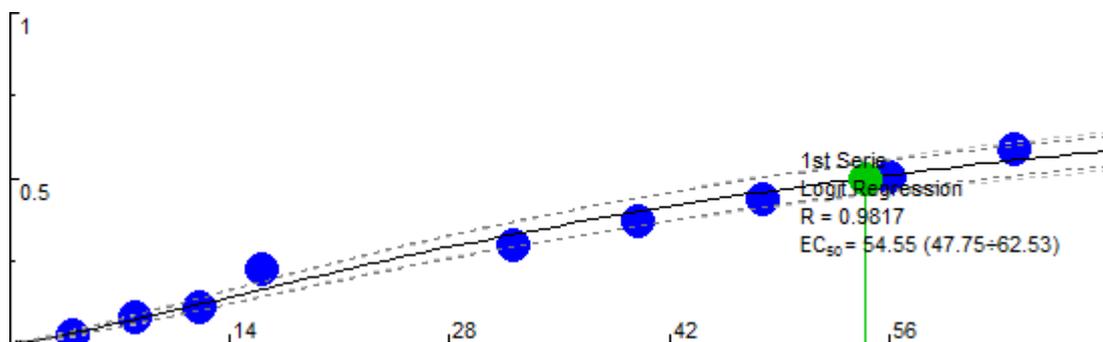
**Tabla 9-4:** Valores del ensayo NADH/PMS/NBT para *Palicourea amethystina*.

Concentración, µg/mL	<i>P. amethystina</i> , % inhibición de radical superóxido
4	2,594±0.40
8	7,655±0.68
12	10,826±0.86
16	22,246±1.60
32	29,483±1.02
40	36,848±0.86
48	43,594±0.98
56	50,231±0.94
64	58,839±1.41

Los valores representan el promedio ± desviación estándar de n=3.

Realizado por: Tasan Luis, 2022

Las distintas lecturas que se hicieron fueron acorde a resultados que nos iba otorgando el espectrofotómetro para lo cual se obtuvieron datos selectivos para realizar la EC50.



**Ilustración 9-4:** Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 del extracto de la planta *Palicourea amethystina*.

Realizado por: Luis Tasán, 2022.

Como se puede apreciar luego de realizar la EC50 se puede determinar que el extracto obtenido de la planta *Palicourea amethystina* no tiene un resultado favorable en comparación al de su patrón que es el ácido gálico como se puede apreciar en el Gráfico 3-9, incluso es menor porcentaje de inhibición del radical superóxido en comparación al extracto de la planta *Palicourea pilosa*, aunque si existe una actividad es muy débil, es un resultado acertado y en conjunto con el método DPPH.

#### 4.11. Inhibición de la formación de radical superóxido por la fracción alcaloidal de *Palicourea sulphurea*

En este método se tomaron varias lecturas acordes a la formación de radical superóxido para tener un resultado y así poder realizar la concentración efectiva media en comparación a su patrón que en este caso es el ácido gálico y aquellos resultados se verán reflejados en la Tabla 3-10.

**Tabla 10-4:** Valores del ensayo NADH/PMS/NBT para *Palicourea sulphurea*.

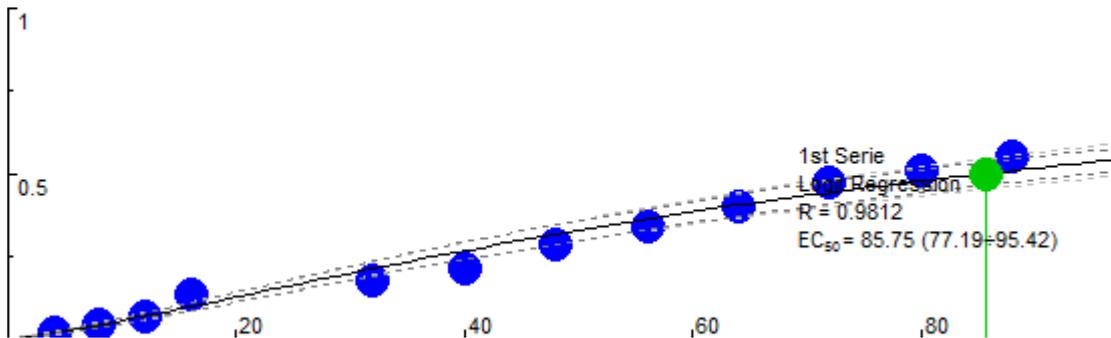
Concentración, µg/mL	<i>P. sulphurea</i> % inhibición de radical superóxido
4	1,540±0.82
8	4,543±0.78
12	6,425±0.96
16	13,203±0.87
32	17,498±1.12
40	21,474±1.08
48	28,374±1.26
56	33,765±2.12
64	40,029±0.98

72	47,291±0.89
80	51,133±0.63
88	55,219±1.02

Los valores representan el promedio ± desviación estándar de n=3.

**Realizado por:** Tasán Luis, 2022

Las distintas mediciones que se hicieron fueron acorde a resultados que nos iba otorgando el espectrofotómetro para lo cual se obtuvieron datos selectivos para realizar la EC50.



**Ilustración 10-4:** Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 del extracto de la planta *Palicourea sulphurea*.

**Realizado por:** Tasán Luis, 2022.

Como se puede apreciar luego de realizar la EC50 se puede determinar que el extracto obtenido de la planta *Palicourea sulphurea* de los tres extractos que se han realizado es el menos favorable como se puede apreciar en el Gráfico 3-10, esta afirmación se da gracias al patrón que tenemos para realizar su debida comparación, con esto se concluye con su porcentaje de inhibición de radical superóxido es muy baja y se puede afirmar que su actividad antioxidante va ser desfavorable, y su resultado va conjuntamente con el método DPPH que nos ayuda a determinar si el resultado es acorde.

#### 4.12. Inhibición de la formación de radical superóxido por la fracción alcaloidal de *Psychotria stenostachya*.

En este método se tomaron varias lecturas acordes a la formación de radical superóxido para tener un resultado y así poder realizar la concentración efectiva media en comparación a su patrón que en este caso es el ácido gálico y aquellos resultados se verán reflejados en la Tabla 3-11.

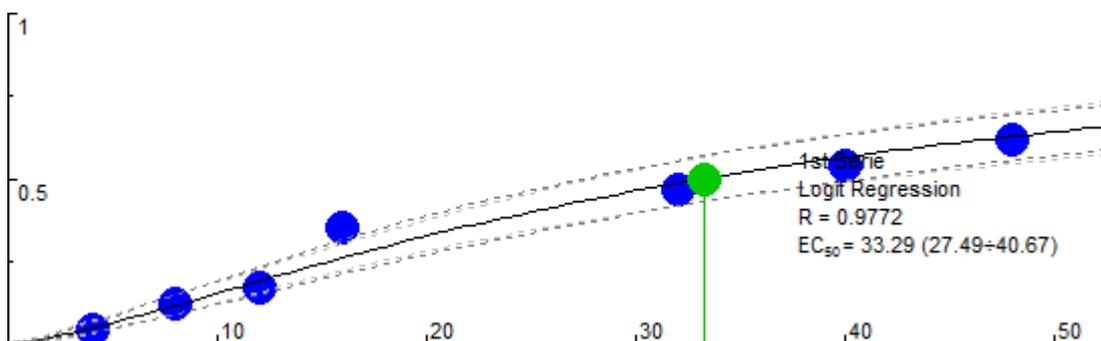
**Tabla 11-4:** Valores del ensayo NADH/PMS/NBT para *Psychotria stenostachya*.

Concentración, µg/mL	<i>P. stenostachya</i> % inhibición de radical superóxido
4	4,089±0.96
8	12,065±0.89
12	17,061±0.92
16	35,060±1.09
32	46,466±1.16
40	54,211±0.78
48	61,827±0.69

Los valores representan el promedio ± desviación estándar de n=3.

Realizado por: Tasan Luis, 2022

Las distintas mediciones que se hicieron fueron acorde a resultados que nos iba otorgando el espectrofotómetro para lo cual se obtuvieron datos selectivos para realizar la EC50.



**Ilustración 11-4:** Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 del extracto de la planta *Psychotria stenostachya*.

Realizado por: Luis Tasán, 2022.

Como se puede apreciar luego de realizar la EC50 se puede determinar que el extracto obtenido de la planta *Psychotria stenostachya* tiene un valor más cercano al de su patrón, es decir que su porcentaje de inhibición de radical superóxido es efectivo y se puede afirmar que esta planta tiene una actividad antioxidante mayormente elevada que la de los anteriores extractos, esto se logró determinar luego de ver el porcentaje de inhibición de radical superóxido en conjunto con el método DPPH los cuales van conjuntamente y se determinó que si tiene una actividad antioxidante muy elevada.

#### 4.13. Inhibición de la formación de radical superóxido por la fracción alcaloidal de *Cinchona sp*

En este método se tomaron varias lecturas acordes a la formación de radical superóxido para tener un resultado acorde y así poder realizar la concentración efectiva media en comparación a su

patrón que en este caso es el ácido gálico y aquellos resultados se verán reflejados en la Tabla 3-12.

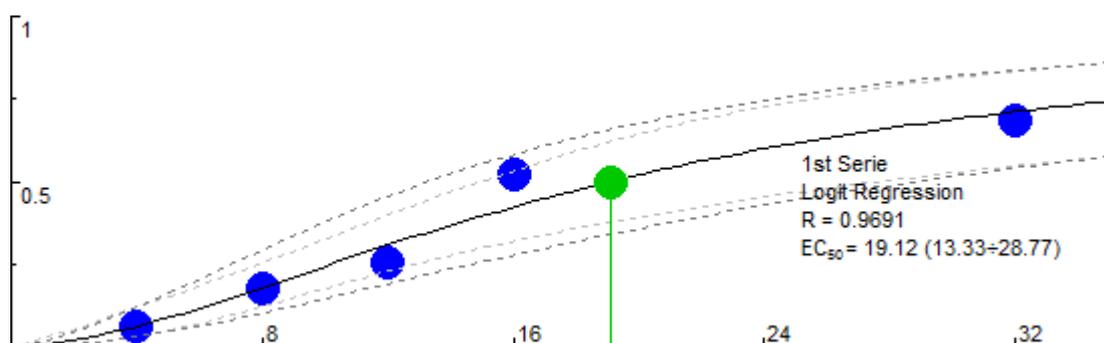
**Tabla 12-4:** Valores del ensayo NADH/PMS/NBT para *Cinchona sp.*

Concentración, $\mu\text{g/mL}$	<i>Cinchona sp.</i>
4	6,048 $\pm$ 0.87
8	17,846 $\pm$ 1.09
12	25,238 $\pm$ 1.12
16	51,862 $\pm$ 0.78
32	68,734 $\pm$ 0.73

Los valores representan el promedio  $\pm$  desviación estándar de n=3.

**Realizado por:** Tasan Luis, 2022

Las distintas mediciones que se hicieron fueron acorde a resultados que nos iba otorgando el espectrofotómetro para lo cual se obtuvieron datos selectivos para realizar la EC50.



**Ilustración 12-4:** Ajuste al modelo logarítmico para la estimación de EC50 del extracto de la planta *Cinchona sp.*

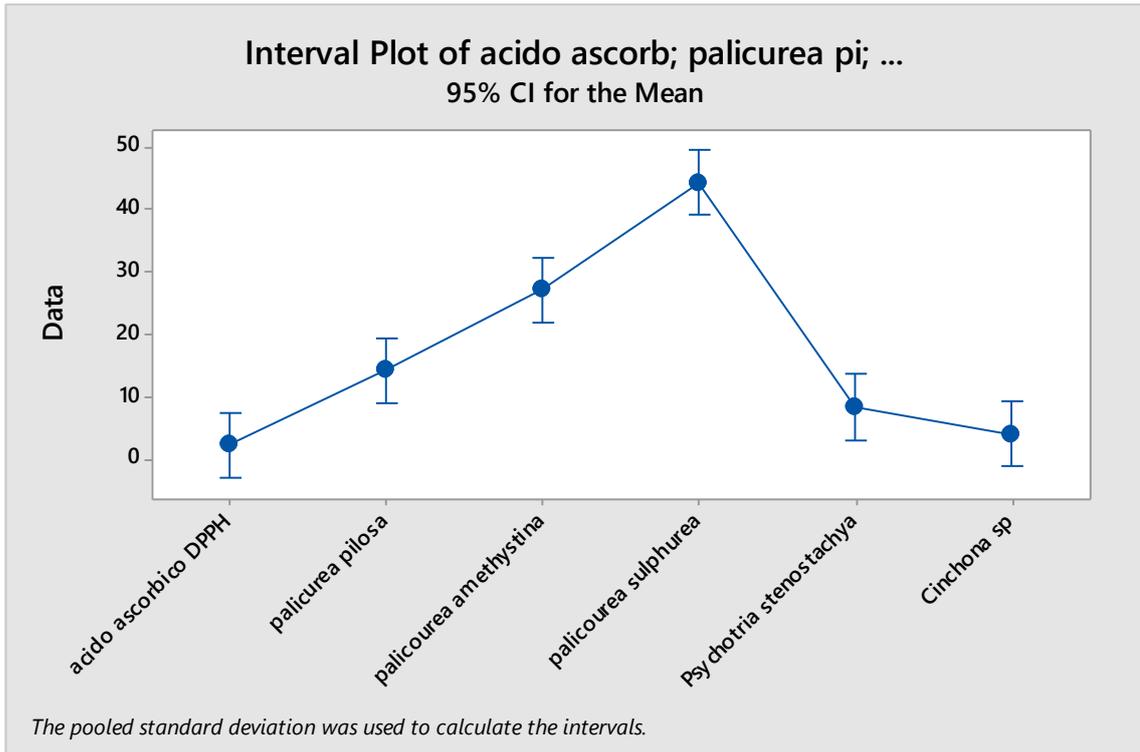
**Realizado por:** Luis Tasán, 2022.

Como se puede apreciar luego de realizar la EC50 se puede determinar que el extracto obtenido de la planta *Cinchona sp.*, es el que mejora actividad presenta a comparación de los diferentes resultados que hemos ido obteniendo a lo largo de los distintos análisis, con eso podemos determinar que su porcentaje de inhibición es elevado y afirmar que su actividad antioxidante es la más favorable en comparación con los distintos extractos que tenemos analizados previamente para lo cual realizaremos un ANOVA con que determinamos cuales son los extractos que realmente no tienen una diferencia significativa con su patrón.

#### 4.14. Análisis estadístico

Se aplicó ANOVA para determinar si existe o no diferencias significativas entre los distintos compuestos tanto en el ensayo de DPPH\* y Sistema NADH/metosulfato de fenazina/NBT lo cual nos arrojó los siguientes resultados.

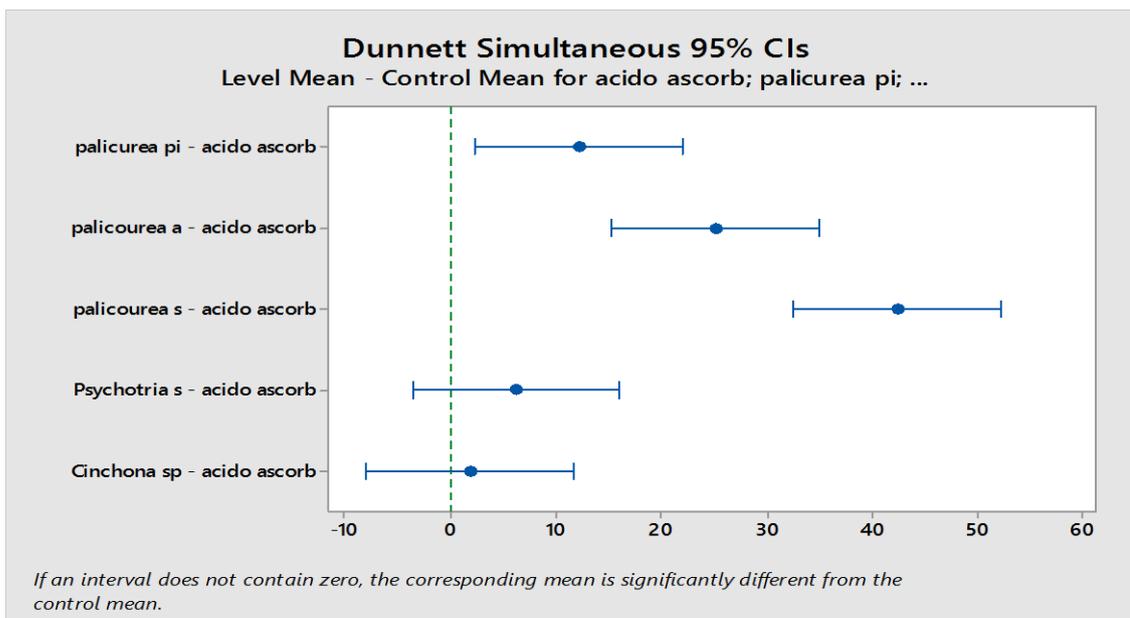
##### Método DPPH\*.



**Ilustración 13-4:** Diagrama de intervalo del patrón a comparación de los 5 extractos en el método DPPH\*.

**Realizado por:** Tasán Luis, 2022.

Como podemos apreciar en el gráfico 3-13 podemos ver los intervalos que mantienen los extractos en comparación a su patrón que en este caso fue el ácido ascórbico para lo cual procedemos a ver si existe diferencias significativas.

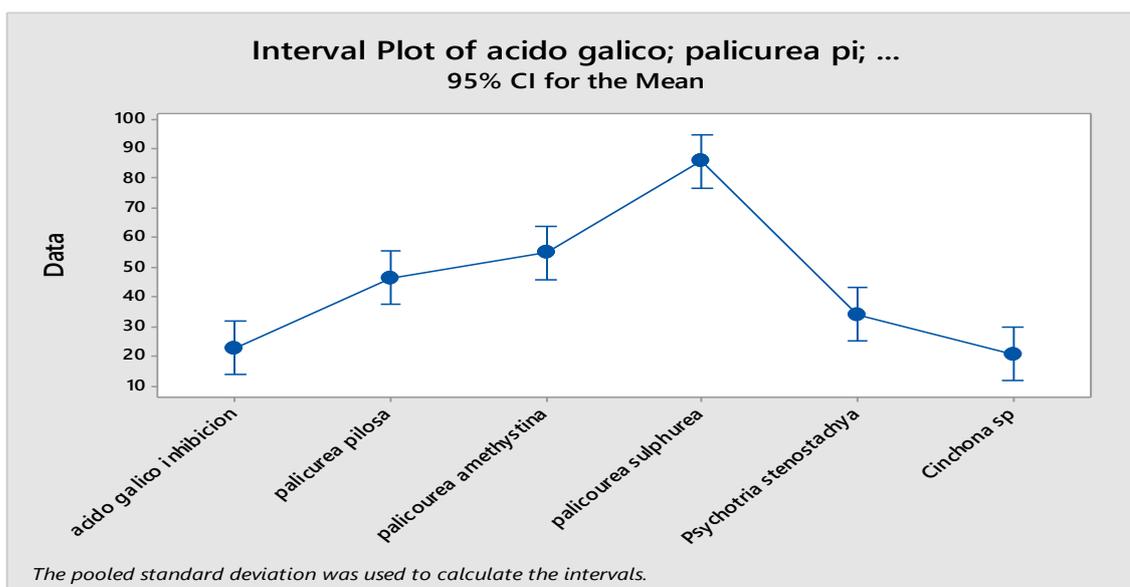


**Ilustración 14-4:** Aplicación de la prueba de Dunnett en el método DPPH\*.

**Realizado por:** Tasán Luis, 2022.

La aplicación de la Prueba de Dunnett nos ayuda a comparar las medias de los diferentes extractos con la de su patrón con un 95% de confianza podemos afirmar que el extracto de la planta *Cinchona sp*, no tiene una diferencia significativa como podemos apreciar en el gráfico 3-14 a la de su patrón por lo cual es óptima para seguir un estudio y tener en cuenta que la planta posee una actividad antioxidante similar por no decir igual a la del ácido ascórbico.

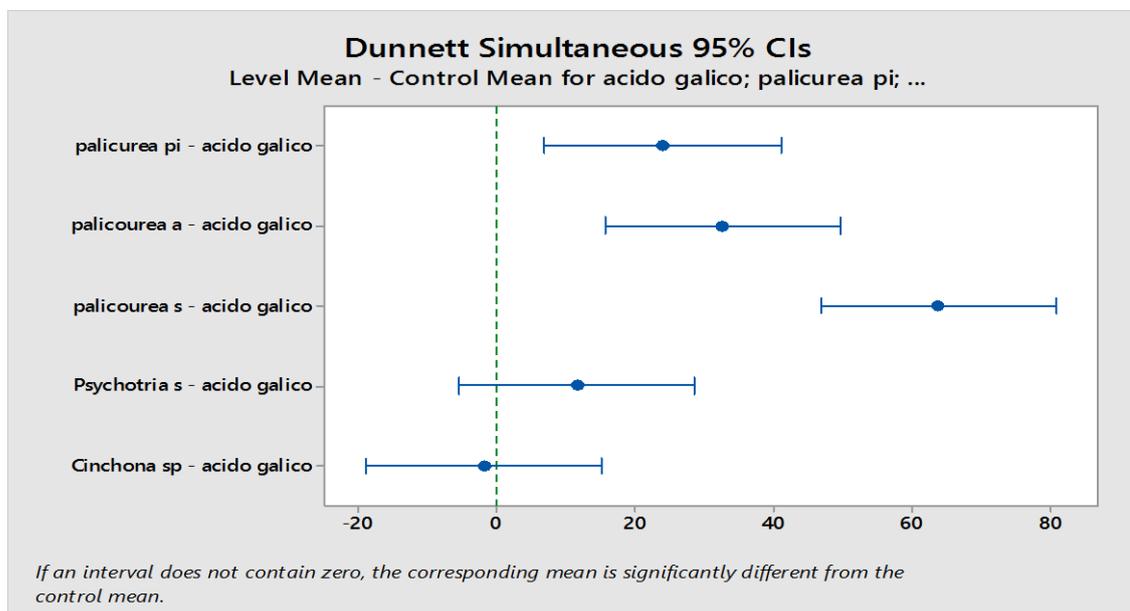
#### Sistema NADH/metosulfato de fenazina/NBT



**Ilustración 15-4:** Diagrama de intervalo del patrón a comparación de los 5 extractos en el sistema NADH/metosulfato de fenazina/NBT.

**Realizado por:** Tasán Luis, 2022.

Como podemos apreciar en el gráfico 3-15 podemos ver los intervalos que mantienen los extractos en comparación a su patrón que en este caso fue el ácido gálico para lo cual procedemos a ver si existe diferencias significativas.



**Ilustración 16-4:** Aplicación de la prueba de Dunnnett en el sistema NADH/metosulfato de fenazina/NBT.

Realizado por: Tasán Luis, 2022.

En la prueba de Dunnnett que podemos apreciar en el gráfico 3-16 podemos afirmar que luego de aplicar el sistema NADH/metosulfato de fenazina/NBT logramos complementar el estudio de la actividad antioxidante arrojándonos como resultado que la *Cinchona sp*, en comparación a la de su patrón que es el ácido gálico no existe una diferencia significativa por ende tenemos que el extracto alcaloidal presenta una actividad antioxidante similar a la de su patrón.

#### 4.15. Discusión

Los resultados expuestos indican que todas las plantas poseen actividad antioxidante unas más que otras ya que gracias al ensayo DPPH\*, se logró determinar que el extracto hidroalcohólico presenta una capacidad de captación puesto que su ensayo se basa en la medición de radicales libres por parte de sustancias antioxidantes.

Luego de verificar la presencia de actividad antioxidante procedimos a obtener un extracto alcaloidal para lo cual se realizó las pruebas confirmatorias para verificar que los extractos posean alcaloides como son la prueba de Dragendorff, Mayer y Wagner, las cuales para los 5 extractos dieron positivo y así seguimos con la aplicación del sistema NADH/metosulfato de fenazina/NBT.

En el sistema NADH/metosulfato de fenazina/NBT podemos cuantificar la actividad captadora gracias al radical superóxido por lo cual los extractos alcaloidales pueden presentar actividad antioxidante, como todos dieron positivos los resultados expuestos en las tablas nos ayudan a comprender en base a su patrón en que condiciones presenta actividad antioxidante.

Los resultados obtenidos en la prueba de DPPH\* nos indica que las plantas del genero *Palicourea*, son las que menos actividad presentan en comparación al ácido ascórbico, de ellas la que más se destaca es la *Palicourea sulphurea*, aun así, su capacidad de captación de radicales libres es baja.

El extracto de la planta *Psychotria stenostachya*, presenta una capacidad de captación de radicales libres muy elevada, en comparación a las del genero *Palicourea*, esto quiere decir que tiene mayor actividad antioxidante y es una de las que más se acerca al patrón dato que podemos confirmar con la aplicación de ANOVA.

La *Cinchona sp*, es la que mejor resultado arrojo, puesto que mediante el grafico Dunnett no tiene una diferencia significativa en comparación a su patrón, por lo cual obtuvimos un extracto similar por no decir igual a la del patrón que fue el ácido ascórbico, con esto queremos decir que la capacidad de captación de radicales libre es igual la del extracto que la del patrón.

Los resultados obtenidos en el sistema NADH/metosulfato de fenazina/PMS confirmaron los resultados obtenidos en el ensayo DPPH\* puesto que por la generación del radical superóxido podemos verificar y cuantificar la actividad antioxidante y específicamente porque realizamos la prueba con un extracto alcaloidal.

Las lecturas que obtuvimos en diferentes concentraciones nos indicaron que el género *Palicourea*, no tiene una generación de radical superóxido buena en comparación a las de su patrón por lo cual podemos afirmar que presenta una actividad antioxidante pero no es bueno, entre ellas la que mejor resultado obtuvo fue la *Palicourea sulphurea*.

La *Psychotria stenostachya*, es quien resalta en comparación al género *Palicourea*, ya que su generación de radical superóxido es similar al de su patrón que es el ácido gálico y existe una diferencia no tan significativa.

La *Cinchona sp* es la que mayor actividad antioxidante presento por generación de radical superóxido en comparación al ácido ascórbico que según bibliografía sabemos que es uno de los compuestos con más presencia antioxidante que tenemos en la actualidad y gracias a la generación de radical superóxido se permite identificar la actividad, a su vez gracias a estos estudios podemos

tener en consideración una alternativa para este compuesto lo cual fácilmente se puede dar seguimiento realizando una separación de alcaloides usando distintos métodos como podría ser HPLC para la debida determinación de que alcaloides o compuestos son los que realmente generan un radical superóxido y así determinar cuales son los que realmente me sirven.

Los dos métodos se complementan puesto que buscan un fin común, el cual es determinar la actividad antioxidante ya sea por la capacidad de captación o la generación de radical superóxido, por ende se aplicó en todos los extractos y como previamente se mencionó la *Cinchona sp* fue la que mayor actividad antioxidante presentó y como prueba complementaria se puede usar el uno con el otro método para su veracidad y verificación, pero no con esto queremos decir que los demás extractos no tuvieron actividad antioxidante, puesto que todos arrojaron resultados positivos y ninguno se quedó en base cero.

## CONCLUSIONES

Los extractos obtenidos de las cinco plantas evaluadas, presentan moléculas con actividad antioxidante, puesto que en el método DPPH\*, se determinó la captación de radical libre y en el sistema NADH/metosulfato de fenazina/PMS se cuantificó la inhibición de radical superóxido con la finalidad de afirmar que las especies estudiadas exhiben actividad antioxidante.

Se obtuvo los extractos el uno de naturaleza hidroalcohólico para el ensayo DPPH\*, y el otro de naturaleza apolar acaloidal para el sistema NADH/metosulfato de fenazina/PMS con la finalidad de demostrar las propiedades antioxidantes de los componentes totales y fraccionados de las especies estudiadas.

Se realizó patrones en este caso el ácido ascórbico y ácido gálico, usamos estas moléculas ya que previamente fueron estudiadas y son moléculas que presentan actividad antioxidante elevada para así lograr un análisis eficaz.

Cuantificar la actividad antioxidante de los 5 extractos de las plantas de la familia Rubiaceae mediante el sistema NADH/NBT/metosulfato de fenazina (PMS) y el método DPPH\*.

Se relaciono los resultados aplicando ANOVA y con el gráfico de Dunnett identificar que extracto es el que no tiene una diferencia significativa que en nuestro caso en los 2 ensayos nos dio la planta *Cinchona sp*, pues fue la que relativamente es igual a la de su patrón.

## **RECOMENDACIONES**

Tener siempre en cuenta que el extracto debe proceder de hojas y plantas previamente analizadas y determinando un control de calidad efectivo

Es de suma importancia que longitud a la que se trabaje sea no más de 517 nm puesto que es un valor que según bibliografía es el más acorde para realizar el estudio

Realizar las mediciones por triplicado para tener veracidad en los resultados y evitar cualquier inconveniente si así se presentara la situación.

Tener siempre los reactivos utilizados en los 2 métodos en congelación para evitar alguna alteración en los mismos.

## BIBLIOGRAFÍA

**ACOSTA, Diana**, *La Cinchona, la planta nacional de Ecuador - Wikiflora - Turismo botánico*. Online. 9 octubre 2019. [Accedido 16 octubre 2022]. Recuperado a partir de: <https://turismobotanico.es/wikiflora-cinchona/>

**ALMAJANO, M. Pilar, DELGADO, M. Eugenia & GORDON, Michael H.,** *Food Chemistry*. Changes in the antioxidant properties of protein solutions in the presence of epigallocatechin gallate. 1 enero 2007. Vol. 101, no. 1, pp. 126-130. DOI 10.1016/J.FOODCHEM.2006.01.009.

**AMORES, Celia Castaño, JOSÉ, Pablo & BENAVIDES, Hernández,** *Ars Pharm.* Artículo original Original Article Activos antioxidantes en la formulación de productos cosméticos anti-vejecimiento Antioxidant actives in the formulation of anti-aging cosmetic products. Online. 2018. Vol. 59, no. 2, pp. 77-84. [Accedido 16 octubre 2022]. DOI 10.30827/ars.v59i2.7218.

**AVELLO, Marcia & SUWALSKY, Mario, 2006a.** *Atenea (Concepción)*. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Online. 2006. No. 494, pp. 161-172. [Accedido 16 octubre 2022]. DOI 10.4067/S0718-04622006000200010.

**AVELLO, Marcia & SUWALSKY, Mario, 2006b.** *tenea (Concepción)*. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. AOnline. 2006. No. 494, pp. 161-172. [Accedido 16 octubre 2022]. DOI 10.4067/S0718-04622006000200010.

**CARBONARO, Theresa M. & GATCH, Michael B.,** *Brain research bulletin*. Neuropharmacology of N,N-dimethyltryptamine. Online. 1 septiembre 2016. Vol. 126, no. Pt 1, pp. 74-88. [Accedido 16 octubre 2022]. DOI 10.1016/J.BRAINRESBULL.2016.04.016.

**CIENTÍFICA, Serie,** Enfermedades neurodegenerativas coordinadores José M<sup>a</sup> Segovia de Arana Francisco Mora Teruel. *Enfermedades neurodegenerativas coordinadores José M<sup>a</sup> Segovia de Arana Francisco Mora Teruel.* . 2002.

**COLMEIRO, Miguel,** *La Botánica y los botánicos de la Península Hispano-Lusitana*. Online. 1858. pp. 27-28. [Accedido 16 octubre 2022]. Recuperado a partir de: <https://bibdigital.rjb.csic.es/records/item/9508-la-botanica-y-los-botanicos-de-la-peninsula-hispano-lusitana>

**CORONADO H., Marta, VEGA Y LEÓN, Salvador, et. al.** *Revista chilena de nutrición*. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Online. 18 agosto 2015. Vol. 42, no. 2, pp. 206-212. [Accedido 16 octubre 2022]. DOI 10.4067/S0717-75182015000200014.

**DAL-SOUTO FRESCURA, Viviane, WOUTERS KUHN, et. al.** *Biocell*. Post-treatment with plant extracts used in Brazilian folk medicine caused a partial reversal of the antiproliferative effect of glyphosate in the *Allium cepa* test. Online. 2013. Vol. 37, no. 2, pp. 23-28. [Accedido 16 octubre 2022]. Recuperado a partir de: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0327-95452013000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0327-95452013000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=en)

**DEAN, Jon G., LIU, Tiecheng, HUFF, Sean, SHELER, Ben, et. al.** *Biosynthesis and Extracellular Concentrations of N,N-dimethyltryptamine (DMT) in Mammalian Brain*. Scientific Reports 2019 9:1. Online. 27 junio 2019. Vol. 9, no. 1, pp. 1-11. [Accedido 16 octubre 2022]. DOI 10.1038/s41598-019-45812-w.

**EHRENDORFER, Friedrich, BARFUSS, Michael H.J., et. al.** *Phylogeny, character evolution and spatiotemporal diversification of the species-rich and world-wide distributed tribe Rubieae (Rubiaceae)*. PLoS ONE. Online. 1 diciembre 2018. Vol. 13, no. 12. [Accedido 16 octubre 2022]. DOI 10.1371/JOURNAL.PONE.0207615.

**GALVEZ RIVAS, Alex Mauricio & ZALDAÑA BURGOS, Josue Daniel,** *Sistema Bibliotecario*. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH en diez frutos de especies vegetales pertenecientes a la flora salvadoreña. Online. 8 febrero 2020. Vol. 1, pp. 8-10. [Accedido 16 octubre 2022]. Recuperado a partir de: <https://ri.ues.edu.sv>

**GREENWALD, Robert A.,** *Handbook Methods for Oxygen Radical Research*. Handbook methods for oxygen radical research. 1 enero 2018. pp. 1-447. DOI 10.1201/9781351072922.

**HU, Dennis X., WITHALL, David M., CHALLIS, Gregory L. & THOMSON, Regan J.,** *Chemical Reviews* Structure, Chemical Synthesis, and Biosynthesis of Prodiginine Natural Products.. 27 julio 2016. Vol. 116, no. 14, pp. 7818-7853. DOI 10.1021/ACS.CHEMREV.6B00024.

**IBARRA ESTRADA, Emmanuel, PACHECO SÁNCHEZ, Maribel, et. al.** *Revista fitotecnia mexicana*. Actividad antioxidante de alcaloides de *Erythrina americana* Miller. Online. 2011. Vol. 34, no. 4, pp. 241-246. [Accedido 16 octubre 2022]. Recuperado a partir de:

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-73802011000400005&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802011000400005&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

**LIGUORI, Ilaria, RUSSO, Gennaro, CURCIO, Francesco, BULLI, Giulia, et. al.** *Clinical Interventions in Aging*. Oxidative stress, aging, and diseases. Online. 1 enero 2018. Vol. 13, pp. 757. [Accedido 16 octubre 2022]. DOI 10.2147/CIA.S158513.

**LOBO, V., PATIL, A., PHATAK, A. & CHANDRA, N.,** *Pharmacognosy Reviews*. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Online. julio 2010. Vol. 4, no. 8, pp. 116-118. [Accedido 16 octubre 2022]. DOI 10.4103/0973-7847.70902.

**PEÑARRIETA, J Mauricio, TEJEDA, Leslie, MOLLINEDO, Patricia, VILA, José L & BRAVO, José A,** *Bolivian Journal of Chemistry*. PHENOLIC COMPOUNDS IN FOOD ‡. Online. 2014. Vol. 31, no. 2, pp. 68-81. [Accedido 16 octubre 2022]. Recuperado a partir de: <http://www.bolivianchemistryjournal.org>, <http://www.scribd.com/bolivianjournalofchemistry>

**PORTO, Diogo D., HENRIQUES, Amélia T. & FETT-NETO, Arthur G.,** *The Open Bioactive Compounds Journal*. Bioactive Alkaloids from South American Psychotria and Related Species. 28 septiembre 2009. Vol. 2, no. 1, pp. 29-36. DOI 10.2174/1874847300902010029.

**QUEVEDO, Sara Pura Terrado, VIDAILLET, Armando Barthelemy, et. al.** *Revista Información Científica*. Radicales libres y defensas antioxidantes. Online. 2003. Vol. 37, no. 1, pp. 8-10. [Accedido 16 octubre 2022]. Recuperado a partir de: <http://www.revinfocientifica.sld.cu/index.php/ric/article/view/1598>

**VEGA, María del Carmen Valadez & GUZMÁN, Lorenzo Mendoza, 2021a.** *Educación y Salud Boletín Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*. Descripción de las plantas medicinales de la familia Rubiaceae con actividad. Online. 5 junio 2021. Vol. 9, no. 18, pp. 168-174. [Accedido 16 octubre 2022]. DOI 10.29057/ICSA.V9I18.6576.

**VEGA, María del Carmen Valadez & GUZMÁN, Lorenzo Mendoza, 2021b.** *Educación y Salud Boletín Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*. Descripción de las plantas medicinales de la familia Rubiaceae con actividad. Online. 5 junio 2021. Vol. 9, no. 18, pp. 168-174. [Accedido 11 diciembre 2022]. DOI 10.29057/ICSA.V9I18.6576.

**VEROTTA, L., PETERLONGO, F., ELISABETSKY, Elaine, AMADOR, Tania A. & NUNES, D. S.,** *Journal of Chromatography* High-performance liquid chromatography–diode array detection–tandem mass spectrometry analyses of the alkaloid extracts of Amazon Psychotria species. A. 14 mayo 1999. Vol. 841, no. 2, pp. 165-176. DOI 10.1016/S0021-9673(99)00298-8.

**VILAPLANA, Montse,** *Offarm*. Antioxidantes presentes en los alimentos. Vitaminas, minerales y suplementos. Online. 1 noviembre 2007. Vol. 26, no. 10, pp. 79-86. [Accedido 16 octubre 2022]. Recuperado a partir de: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-antioxidantes-presentes-alimentos-vitaminas-minerales-13112893>

**WEBER, Manfred, KLEINE-BOYMANN, Michael, WEBER, Manfred & WEBER, Markus,** *Phenol*. Online. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. [Accedido 16 octubre 2022].





esPOCH

Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 29 / 03 / 2023

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Luis David Tasan Arias
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias
<b>Carrera:</b> Bioquímica y Farmacia
<b>Título a optar:</b> Bioquímico farmacéutico
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> Ing. Rafael Inty Salto. Hidalgo

0298-DBRA-UPT-2023

