



**UNAP**



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DOCTORADO EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN ECOLOGÍA AMAZÓNICA**

**TESIS**

**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO Y EFECTO DE  
LOS EXTRACTOS DE *Virola calophylla* (SPRUCE),  
*Caryocar glabrum* (AUBL.) Y *Tapirira guianensis*  
(AUBL.) EN EL PERFIL DE ÁCIDOS  
GRASOS DE *Mus musculus*.  
REGIÓN LORETO**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN CIENCIAS  
CON MENCIÓN EN ECOLOGÍA AMAZÓNICA**

**PRESENTADO POR : FREDDY ORLANDO ESPINOZA CAMPOS**

**ASESORA : Dra. DORA ENITH GARCÍA DE SOTERO**

**IQUITOS, PERÚ**

**2020**



**UNAP**



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DOCTORADO EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN ECOLOGÍA AMAZÓNICA**

**TESIS**

**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO Y EFECTO DE  
LOS EXTRACTOS DE *Virola calophylla* (SPRUCE),  
*Caryocar glabrum* (AUBL.) Y *Tapirira guianensis*  
(AUBL.) EN EL PERFIL DE ÁCIDOS  
GRASOS DE *Mus musculus*.  
REGIÓN LORETO**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN CIENCIAS  
CON MENCIÓN EN ECOLOGÍA AMAZÓNICA**

**PRESENTADO POR : FREDDY ORLANDO ESPINOZA CAMPOS**

**ASESORA : Dra. DORA ENITH GARCÍA DE SOTERO**

**IQUITOS, PERÚ**

**2020**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN



**UNAP**

Escuela de Postgrado "JOSÉ TORRES VÁSQUEZ"  
Oficina de Asuntos Académicos



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS 007-2020-OAA-EPG-UNAP

Con Resolución Directoral N° 0112-2020-EPG-UNAP, se autoriza la sustentación de la tesis: "ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO Y EFECTO DE LOS EXTRACTOS DE *Virola calophylla* (SPRUCE), *Caryocar glabrum* (AUBL.) Y *Tapirira guianensis* (aubl.) EN EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE *Mus musculus*. REGIÓN LORETO", teniendo como jurados a los siguientes profesionales:

Blgo. Jorge Luis Marapara del Águila, Dr.	Presidente
Blgo. Juan Carlos Castro Gómez, Dr.	Miembro
Blgo. Alberto García Ruiz, Dr.	Miembro
Ing. Quim. Dora Enith García de Sotero, Dra.	Asesora

A los tres días del mes de febrero del 2020, a horas 10:00 a.m., en el Auditorio de la Escuela de Postgrado de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, se constituyó el Jurado evaluador y dictaminador, para presenciar y evaluar la sustentación de la tesis: "ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO Y EFECTO DE LOS EXTRACTOS DE *Virola calophylla* (SPRUCE), *Caryocar glabrum* (AUBL.) Y *Tapirira guianensis* (aubl.) EN EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE *Mus musculus*. REGIÓN LORETO" presentado por el señor FREDDY ORLANDO ESPINOZA CAMPOS, como requisito para obtener el Grado Académico de Doctor en Ciencias con mención en Ecología Amazónica que otorga la UNAP de acuerdo a la Ley Universitaria N° 30220 y el Estatuto de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

Después de haber escuchado la sustentación y luego de formuladas las preguntas, éstas fueron:

ABSUELTAS

El Jurado, después de la deliberación correspondiente en privado, llegó a las siguientes conclusiones, la sustentación es:

1. Aprobado como: a) Excelente ( ) b) Muy bueno ( ) c) Bueno (X)
2. Desaprobado: ( )

Observaciones : LO QUE SE INDICA EN EL INICIO DE FINAL

A continuación, el Presidente del Jurado, da por concluida la sustentación, siendo las 11.50 a.m. del día tres de febrero del 2020; con lo cual, se le declara al sustentante... APTO... para recibir el Grado Académico de Doctor en Ciencias con mención en Ecología Amazónica.

Blgo. Jorge Luis Marapara del Águila, Dr.  
Presidente

Blgo. Juan Carlos Castro Gómez, Dr.  
Miembro

Blgo. Alberto García Ruiz, Dr.  
Miembro

Ing. Quim. Dora Enith García de Sotero, Dra.  
Asesora

HOJA DE APROBACIÓN

TESIS APROBADA EN SUSTENTACIÓN PÚBLICA DEL  
DÍA.....MES..... AÑO.....EN EL AUDITORIUM DE LA ESCUELA  
DE POSTGRADO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA  
PERUANA, EN LA CIUDAD DE IQUITOS-PERÚ.



---

Dr. JORGE LUIS MARAPARA DEL AGUILA  
Presidente



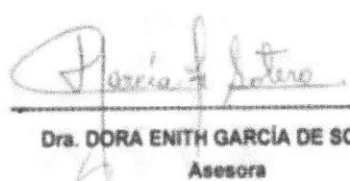
---

Dr. JUAN CARLOS CASTRO GÓMEZ  
Miembro



---

Dr. ALBERTO GARCÍA RUIZ  
Miembro



---

Dra. DORA ENITH GARCÍA DE SOTERO  
Asesora

A Dios, por darme la vida, a mi esposa María Patricia, a mis hijos Freddy Mateo, Diego Orlando y Frydda Juliana, por ser parte de mi proyecto de vida. A mi mamá Norma Angélica.

***FREDDY ORLANDO***

## AGRADECIMIENTO

- A la Dra. DORA GARCIA DE SOTERO, investigadora del proyecto PIBA- FUNDESAB: Identificación de los principios activos causantes de la actividad antioxidante y alelopática de seis especies vegetales nativas de la región Loreto. Resolución de Coordinación Ejecutiva N° 080-2014-PRODUCE/PNICP- CONTRATO N° 370-PNICP-PIBA-2014. Por el financiamiento y asesoramiento en la ejecución de la Tesis.
- Con mucha gratitud a la Dra. Blanca María Díaz Bardales, por la invitación a ser parte del proyecto PIBA- FUNDESAB.
- Al Dr. Victor Erasmo Sotero Solís, por sus atinadas sugerencias e interpretación de los resultados.
- Un especial agradecimiento a la Ing. Úrsula Vanessa Monteiro Temmerman, al Blgo. Diego Vásquez Torres, Blga. Bárbara Bardales Cabanillas y a la Dra. Silvia Patricia Vásquez Flores, por el apoyo en el desarrollo experimental de la tesis.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	<b>Páginas</b>
Carátula	i
Contracarátula	ii
Acta de sustentación	iii
Jurado	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenido	vii
Índice de tablas	ix
Índice de gráficos	x
Índice de figuras	xi
Resumen	xii
Abstract	xiii
Resumo	xiv
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>01</b>
<b>CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO</b>	<b>03</b>
1.1. Antecedentes	03
1.2. Bases teóricas	09
1.3. Definición de términos básicos	16
<b>CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS</b>	<b>19</b>
2.1. Variables y su operacionalización	19
2.2. Formulación de la hipótesis	20
<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA</b>	<b>21</b>
3.1. Tipo y diseño de la investigación	21
3.2. Población y muestra	21
3.3. Técnicas e instrumentos	22
3.4. Procedimientos de recolección de datos	22

3.5. Técnicas de procesamientos y análisis de los datos	29
3.6. Aspectos éticos	30
<b>CAPÍTULO IV: RESULTADOS</b>	<b>31</b>
<b>CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS</b>	<b>37</b>
<b>CAPÍTULO VI: PROPUESTA</b>	<b>41</b>
<b>CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES</b>	<b>42</b>
<b>CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES</b>	<b>43</b>
<b>CAPÍTULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>44</b>
<b>ANEXOS</b>	



## ÍNDICE DE TABLAS

		<b>Página</b>
Tabla 1	Especies vegetales con sus respectivos porcentajes de inhibición.	31
Tabla 2	Compuestos fenólicos en las especies vegetales.	32
Tabla 3	Perfil de ácidos grasos del Hígado	33
Tabla 4	Perfil de ácidos grasos de los cérebros	34
Tabla 5	Perfil de ácidos grasos del plasma	35

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

		<b>Página</b>
Gráfica 1	Presencia de ácidos grasos en hígado, cerebro y plasma de ratón albino <i>Mus musculus</i>	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

		<b>Página</b>
Figura 1	<b><i>Caryocar glabrum</i> (Aubl.)</b>	12
Figura 2	<b><i>Tapirira guianensis</i> (Aubl)</b>	14
Figura 3	<b><i>Viola calophylla</i> (Spruce)</b>	15

## RESUMEN

Los vegetales constituyen una fuente importante de diversos compuestos fitoquímicos antioxidantes que se sintetizan y acumulan a nivel de las semillas, de las hojas, de la corteza y de la raíz. El objetivo de este estudio fue determinar la actividad antioxidante *in vitro* y efecto de los extractos de *Virola calophylla* (SPRUCE), *Caryocar glabrum* (AUBL.) y *Tapirira guianensis* (AUBL.) en el perfil de ácidos grasos de *Mus musculus*. Se formaron aleatoriamente cuatro grupos de ratones y estos fueron tratados por 28 días con una solución de glucosa (control), extractos metanólicos de *V. calophylla* (T1), *C. glabrum* (T2) y *T. guianensis* (T3). La actividad antioxidante de los extractos se determinó con el método del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidracilo y mediante cromatografía de gases se determinó el perfil de ácidos grasos en el hígado, cerebro y plasma de los cuatro grupos de ratones. Se encontraron altas concentraciones de compuestos fenólicos en los extractos metanólicos de *V. calophylla* (18 580,87 mg/100g), *C. glabrum* (15 180,71 mg/100 g) y *T. guianensis* (11 568,78 mg/100 g). Asimismo, los ácidos grasos saturados y monoinsaturados fueron elevados en el hígado, cerebro y plasma del ratón albino, especie *Mus musculus*, cepa Balb/c/CNPB. En conclusión, los extractos de *V. calophylla*, *C. globrum* y *T. guiannensis* poseen altas concentraciones de compuestos fenólicos totales y se observa cierta protección de los ácidos grasos presentes en los tejidos, que pueden estar relacionados con los oxidantes naturales presentes en los extractos.

**Palabras Clave:** Compuestos fenólicos, Extractos vegetales, Radicales libres, Ratones.

## ABSTRACT

Vegetables constitute an important source of natural diversity for the different compounds that synthesize at the level of seeds, leaves, bark and root peel with antioxidant effects, which in most cases are useful in reducing the reactions of oxidative degradation involved in many diseases of biological systems. The objective of this study was to determine the antioxidant activity in vitro and effect of the extracts of *Virola calophylla* (Spruce), *Caryocar glabrum* (Aubl.) And *Tapirira guianensis* (Aubl.) in the profile of fatty acids of *Mus musculus*. Loreto Region. Materials and Methods: A descriptive and transversal study was developed and an experimental design of the quantitative type was applied with emphasis on descriptive statistics and for the determination of the antioxidant activity of the extracts, the DPPH method was used (Radical free 1,1-difinil -2-picryl-hydrazyl with purity of 99.9%) and the gas chromatophore for the determination of the fatty acid profile in the liver, brain, and plasma of the mice that received the 4 tests. Results: High concentrations of phenolic compounds were found in the extracts of the studied species such as *Virola calphylla* (18580.87mg/100g), *Caryocar glabrum* (15180.71 mg / 100g) and *Tapirira guianensis* (11568.78 mg / 100g). respectively, and higher incidence of saturated and monounsaturated fatty acids in the liver, brain and plasma samples of *Mus musculus*. Conclusions: The extracts of *Virola calophylla*, *Caryocar glabrum* and *Tapirira guiannensis*, have a high presence of total phenolic compounds and a higher content of saturated and monounsaturated fatty acids.

**Keywords:** Phenolic compounds, Vegetable extracts, Free radicals, mice

## RESUMO

Os vegetais constituem uma fonte importante de diversos compostos fitoquímicos antioxidantes que se sintetizam e acumulam O nível das sementes, das folhas, daca e da raíz. O objectivo deste estudo foi determinar a actividade antioxidante im vitro e efeito dos extractos da *Virola calophylla* (Spruce), *Caryocar glabrum* (Aubl.) e *Tapirira guianensis* (Aubl.) no perfil dos ácidos graxos dos *Mus musculus*. Se formaram aleatoriamente quatro grupos dos ratões e estes foram tratados por 28 dias com uma solução de glicose (control) extractos metanolicos de V calophylla (T1), C. Glabrum (T2) e T. guianensis (T3). A actividade antioxidante dos extractos se determinou com o método do radical livre 1,1-Free Radical utilizado difinil –2-picril-hidrazilo e por meio da cromatografia de gásesse determinou o perfil dos ácidos graxos no hígado, cérebro e plasma dos quatro grupos dos ratões, se encontraram altas concentrações de compostos fenolicos nos estratos metanolicos de V. calophylla (18580.87 mg / 100 g), C. glabrum (15180.71 mg/ 100g) e T. guianensis (11568.78 mg /100 g). Assem mesmo, Os ácidos graxos saturados e monoinsaturados foram elevados no fígado, cérebro e plasma do rato albino, especie *Mus musculus* , cepa Balb/CNPB. Em conclusão, os extractos de V. calophylla, C. globrum e T. guiannensis, possuem altas concentrações de compostos fenólicos totais e se observa certa proteção dos ácidos graxos presentes nos tecidos, que podem estar relacionados com os oxidantes naturais presentes nos extractos.

**Palavras-chave:** Compostos fenólicos, estratos vegetais, radicales livres, ratões.

## INTRODUCCIÓN

El aumento de las enfermedades crónicas y degenerativas se ha convertido en uno de los principales problemas de salud en los países desarrollados y en vías de desarrollo. Esto ha provocado un aumento del interés por investigar posibles factores preventivos de estos procesos. En este sentido, se ha comprobado epidemiológicamente que las dietas ricas en frutas y verduras, pueden prevenir el desarrollo de estas enfermedades, debido a la presencia en dichos alimentos de diferentes compuestos bioactivos. Entre estos compuestos se encontrarían los antioxidantes, un amplio grupo de compuestos capaces de prevenir los procesos degenerativos asociados a un exceso de radicales libres en el organismo. En las últimas dos décadas, se han desarrollado un amplio número de métodos para evaluar, tanto la capacidad antioxidante in vitro de extractos vegetales, como los efectos in vivo de la suplementación con antioxidantes<sup>(1)</sup>.

En la Amazonía, las plantas constituyen una fuente importante de diversidad natural por la multitud de compuestos que sintetizan y en la mayoría de los casos son útiles en el control de enfermedades en la agricultura, la medicina humana y en la preservación de alimentos. Varios de estos químicos son metabolitos secundarios que tienen funciones importantes en la interacción entre las plantas y el medio ambiente que las rodea, pueden ser atrayentes de insectos polinizadores y actuar en la defensa al ataque por microorganismos, otras plantas o animales<sup>(2)</sup>.

Dada la importancia de todos estos mecanismos biológicos, se hace necesario profundizar en los aspectos relativos al contenido de compuestos antioxidantes en los vegetales que tradicionalmente han formado parte de la medicina tradicional en nuestra región, con el fin de fomentar el conocimiento y empleo de los mismos y potenciar así su uso por sus propiedades nutricionales y/o funcionales.

Asimismo, nuestra Amazonía cuenta con especies vegetales de reconocida actividad medicinal y otras muy poco conocidas, urge que a través de técnicas científicas modernas de investigación, se evalúe científicamente los productos naturales procedentes de plantas medicinales, especialmente la actividad antioxidante, y de esa manera conservar y preservar los ecosistemas amazónicos, de tal manera que en este estudio, se pretende realizar una caracterización de extractos vegetales desde el punto de vista de su riqueza antioxidante, lo cual nos permitiría cuantificar el contenido individual de cada uno de ellos en relación a la presencia de polifenoles.

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue, determinar la actividad antioxidante in vitro y efecto de los extractos de *Virola calophylla* (Spruce), *Caryocar glabrum* (Aubl.) y *Tapirira guianensis* (Aubl.) en el perfil de ácidos grasos de *Mus musculus*. Región Loreto.



## CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes

Castañeda *et al.*<sup>(8)</sup>, en el Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) evaluaron la capacidad antioxidante de extractos de *Cinnamomum zeylanicum* “canela”, *Calophyllum brasiliense* “lagarto caspi”, *Myrciaria dubia* “camu camu”, *Minthostachys mollis* “muña”, *Alchornea castaneifolia* “hiporuro”, *Smallanthus sonchifolius* “yacón”, *Lepidium peruvianum* y *Lepidium meyenii* “maca”, utilizando el método de la decoloración del radical 2,2-difenil-1- picrilhidrazilo (DPPH). Determinando que, a concentraciones de 1 µg/mL el extracto etanólico de la corteza de canela presento una actividad antioxidante de 97,59%, mientras que los extractos de lagarto caspi, camu camu y muña presentaron una actividad antioxidante de 99,76% , 98,09% y 92, 41% respectivamente a una concentración de 50 µg/mL. Asimismo, hiporuro y lagarto caspi presentaron una actividad antioxidante en 100,57% y 110,56% a 100 µg/mL. Por otro lado, la maca a concentración de 200 µg/mL presento una actividad antioxidante de 95,55%, en comparación con el al ácido ascórbico (Vitamina C) que presentó una actividad antioxidante en promedio de 92,82%.

Ortiz *et al.*<sup>(9)</sup>, determinaron la capacidad antioxidante y antinitrosativa de extractos de hojas y corteza de *Bauhinia kalbreyeri* Harms (casco de vaca. Fabaceae), recolectados del Herbario de la Universidad Nacional de Colombia, reportando que los extractos mostraron alta funcionalidad Asimismo encontraron diferencias significativas entre los extractos entre sí, y entre ellos y las fracciones de flavonoides ( $p < 0.05$ ), corroborando que la actividad antioxidante de la planta parece fundamentarse en el conjunto de derivados fenólicos. De tal manera que los resultados que obtuvieron indican que el potencial antioxidante de *B. kalbreyeri* es comparable con el del Hidroxitolueno butilado y el ácido ascórbico utilizados como antioxidantes por la industria alimentaria y farmacéutica.

Sotero *et al.*<sup>(10)</sup>, evaluaron la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del fruto del “camu camu” (*Myrciaria dubia*), colectadas de la estación experimental El Dorado del Instituto de Extensión e Investigación Agraria de Loreto ( INIA), para evaluar la actividad antioxidante, obteniendo extractos metanólicos de las muestras secas, utilizando el método de *Lebeu et al* por reducción del radical 1,1- difenil-2-pierilhidrazil (DPPH), con absorbancia de 515 nm, reportando que los mejores resultados en cuanto a la actividad antioxidante la presento la cáscara de camu camu con IC 50 de 146,94 µg/mL, seguido de la pulpa con 167,67 µg/mL y con menor actividad antioxidante la semilla con 399,77µg/mL, demostrando que las pulpas y cáscara de camu camu presentan una apreciable actividad antioxidante “*in vitro*”.

Gaitan<sup>(11)</sup> , en el laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de San Carlos de la ciudad de Guatemala, evaluó la actividad antioxidante de cinco especies vegetales utilizadas popularmente para el tratamiento de afecciones de la memoria y los nervios, reportando que los cinco extractos metanólicos de las especies en estudio presentaron actividad antioxidante por el método de DPPH, encontrando que la flor de *Chiranthodendron pentadactylon* tiene la mayor actividad antioxidante total (IC50), expresados como valor mínimo 6,3228 y valor máximo 7,7132.

Enciso *et al.*<sup>(12)</sup>, en la Universidad Científica del Sur, Perú, evaluaron el efecto de extractos de *Bixa orellana* (achiote), *Eupatorium triplernerve* (asmachilca), *Physalis peruviana* (aguaymanto) y *Equisetum arvense* (cola de caballo) sobre la proliferación de cultivos primarios de fibroblastos. Asimismo, evaluaron la capacidad antioxidante y los contenidos de polifenoles y flavonoides. Encontrando que *Bixa orellana* y *Physalis peruviana* mostraron la mayor capacidad antioxidante, asimismo corroboran que los, antioxidantes naturales que se encuentran en las plantas, tienen la propiedad de participar en el control del estrés oxidativo causado por la radiación solar y el oxígeno, por lo que pueden

servir de fuente para la obtención hidroalcohólicos de nuevos compuestos antioxidantes que tengan efectos antiinflamatorios y antitumorales.

García *et al.*<sup>(13)</sup>, evaluaron la actividad antioxidante del chope (*Gustavia augusta* L), sachamangua (*Grias neubertii* Macbr), y macambo (*Theobroma bicolor*), colectados en la región amazónica peruana, los cuales fueron aplicados en 32 ratones albinos del linaje Wistar divididos en cuatro grupos de ocho animales y un grupo de control administrándoles 200 µL de los extractos acuosos de los frutos en estudio, y a los de control una solución de glucosa al 1%, durante un periodo de 28 días reportando que, en el tejido adiposo, los ácidos grasos poliinsaturados fueron superiores a los de control, destacando el grupo de macambo con 40%. En el hígado, el sachamango logró proteger mejor los ácidos grasos y presenta el valor de 51,11%. En el cerebro, hubo un incremento en la concentración de ácido oleico para los grupos de sachamango 21,55% y macambo 21,77%; ácido linoleico para los grupos chope y sachamangua (1,29 y 1,37%). Los ácidos grasos poliinsaturados fueron superiores a los de control, destacando chope 48,14% y macambo 48,57%.

Sotero *et al.*<sup>(14)</sup>, en la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana realizaron un estudio, donde evaluaron la actividad antioxidante mediante el secuestro de radicales libres del DPPH de seis frutales amazónicos: colectando el huasai y uvilla del Centro de Investigaciones “Alpahuayo” del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), la castaña en Tamshiyaco (Distrito de Sargento Lores) y la anona, el huito y el chope a lo largo de la carretera Iquitos- Nauta, reportando que la mayor actividad antioxidante se dio en las cascarás del chopé con IC<sub>50</sub> de 63,02 µg/mL. y en cuanto a compuestos polifenólicos, presentó mayor concentración la cáscara y pulpa de huito 137,15 y 97,78 mg/100g respectivamente. En tanto que en ácido ascórbico están presentes en altas concentraciones en la pulpa de anona con 4,28 mg/100g y semilla de castaña con 3,33 mg/100g.

Guimet<sup>(15)</sup>, en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, evaluó la actividad antioxidante *in vitro* y determinó la concentración de polifenoles totales de extractos de ocho morfotipos de *Bixa Orellana* L, recolectadas del jardín botánico de la Facultad de Agronomía de la UNAP, donde corrobora que la cantidad de polifenoles presente en cada especie no siempre se les puede atribuir todo el poder antioxidante de los mismos ya que existen otros componentes como: flavonoides, ácido ascórbico, tocoferoles, beta carotenos, que también actúan como antioxidante siendo una acción combinada la que produce dicho efecto secuestrador de radicales libres.

Doroteo *et al.*<sup>(16)</sup>, en la Universidad Peruana Cayetano Heredia, determinaron el contenido de ácido ascórbico, flavonoides y compuestos fenólicos totales; asimismo, evaluaron la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *Uncaria tomentosa* (uña de gato), *Zea mays* (maíz morado), *Smallanthus sonchifolius* (yacón), *Lepidium meyenii* (maca), *Krameria triandra* (ratania), *Physallis peruviana* (aguaymanto), mediante los ensayos de inhibición de radicales DPPH, superóxido e hidroxilo; como también a través de la medición de su poder reductor y actividad antioxidante total, reportando que los extractos con mayor actividad antioxidante fueron los de uña de gato y ratania, lo cual puede deberse a sus altos contenidos de ácido ascórbico, flavonoides y compuestos fenólicos totales.

Morales *et al.*<sup>(17)</sup>, evaluaron la actividad biológica *in vitro* de 20 verduras silvestres tradicionalmente consumidas en la Península Ibérica, España, cuantificando la actividad antioxidante total (DPPH y poder reductor). Las muestras de estudio fueron recolectadas durante tres años consecutivos (2007-2009) en dos localidades diferentes del centro peninsular. Los resultados de actividad antioxidante más interesantes, expresados como EC50 (mg/mL de extracto) y evaluados mediante el DPPH, correspondieron a *Anchusa azurea*, *Apium nodiflorum* y *Taraxacum obovatum*.. En general, las plantas silvestres comestibles estudiadas presentan unos valores de actividad antioxidante (EC50) muy

interesantes y su consumo puede tener efectos beneficiosos para la salud además de contribuir a una mayor diversificación de la dieta. Todo ello justifica la conservación y revalorización de su uso alimentario.

Orbe *et al.* <sup>(18)</sup>, evaluaron la actividad antioxidante y alelopática de las hojas de *Piper tenuistylum* C.DC. y *Piper lagenaebaccum* Trel, recolectadas del jardín botánico de plantas medicinales del Centro de Investigaciones Alpahuayo- Mishana, ubicado en el Distrito de San Juan, de la región Loreto, mediante el método de DPPH y ABTS, reportando que la actividad antioxidante de los extractos etanólicos por el método de DPPH, demostró mayor porcentaje de inhibición EC 50 la especie *Piper lagenaebaccum* Trel siendo esta de 23,2560 mg/μL a diferencia de la especie *Piper tenuistylum* C DC. La cual fue de 95,287 mg/μL, enfatizando la alta presencia de grupos fenólicos libres, alcaloides, triterpenos y/o esteroides.

Quinteros<sup>(19)</sup>, realizó un estudio para evaluar la actividad antibacteriana y antioxidante de los extractos etanólicos de las hojas de *Croton thurifer* Kunth y *Croton collinus* Kunth, utilizando un screening fitoquímico preliminar de los extractos etanólicos de las hojas de *Croton thurifer* Kunth y *Croton collinus* Kunth, detectando la presencia de flavonoides, alcaloides, saponinas y esteroides para ambas especies. La actividad antibacteriana determinó utilizando el método de microdilución colorimétrica en microplacas frente a las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Asimismo, la actividad antioxidante lo evaluó mediante el método del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH); y sus resultados lo expresó por medio del valor de la IC50. Reportando que el extracto etanólico de las hojas de *Croton thurifer* Kunth presentó una mayor IC50, con un valor de 28,4 μg/mL, en comparación con el extracto etanólico de las hojas de *Croton collinus* Kunth, que mostró un IC50 de 62,42 μg/mL.

Arbayza *et al.*<sup>(20)</sup>, determinaron la relación existente entre la capacidad antioxidante *in vitro* y el contenido de polifenoles totales en zumo y extractos acuosos e hidroalcohólico de la cáscara del fruto de *Punica granatum*, recolectados en Shirán-Trujillo, aplicando la técnica del 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•), cuyas lecturas espectrofotométricas realizaron a 517 nm. De tal manera que los resultados de polifenoles fueron expresados en mg de ácido tánico equivalente en 100 mL del zumo y de extractos acuoso e hidroalcohólico de cáscara del fruto de *P. granatum*. Asimismo reportaron que el porcentaje de captura de radicales libres de DPPH del zumo fue de 25,6%, el extracto acuoso 59,7% y 43,2% y 84,4% el extracto hidroalcohólico y el porcentaje de polifenoles fue de 25, 4% para el zumo, 21,5% y 19,7% el extracto acuoso y 23,6% el extracto hidroalcohólico. Concluyendo que la capacidad antioxidante en el extracto hidroalcohólico de la cáscara de *P. granatum* fue mayor que en las otras muestras, pero el contenido de polifenoles fue mayor en el zumo, encontrando que no hay correlación entre los valores de la capacidad antioxidante y el contenido en polifenoles totales.

Camacho<sup>(21)</sup>, en el laboratorio de Química Analítica y Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, evaluó la actividad antioxidante *in vitro* e irritabilidad dérmica del aceite del fruto de *Oenocarpus bataua Mart* “ungurahui”, en el cual corrobora que los diversos compuestos presentes en aceites vegetales tienen la propiedad de actuar como antirradicales o antioxidantes. Desde hace décadas, se ha evidenciado la relación directa que existe entre la sobreproducción de radicales libres en el organismo y diversos desórdenes fisiológicos, ciertos estados patológicos y con el envejecimiento. A fin de impedir la acumulación de radicales libres, el organismo cuenta con diferentes mecanismos de defensa antioxidantes producidos de manera endógena, pero a medida que se avanza en edad y/o por condiciones de fuertes agresiones prooxidativas, como la exposición solar intensa y reiterada, estos medios resultan insuficientes para proteger al organismo, por lo que los

antioxidantes son comúnmente empleados en el cuidado de la piel para prevenir este envejecimiento.

López *et al.*<sup>(22)</sup>, los campos de aplicación de los antioxidantes son muy variados; además de terapias farmacológicas también tienen interés como suplementos nutricionales, ingredientes cosméticos para evitar el envejecimiento cutáneo, alimentos funcionales y como conservantes alimentarios, asimismo, la industria agroalimentaria se enfrenta continuamente a problemas de estabilidad de alimentos derivados de la oxidación de los mismos; el uso de antioxidantes sintéticos está muy generalizado pero existe controversia debido a que algunos presentan problemas de toxicidad, por ello los antioxidantes naturales podrían constituir una alternativa.

## **1.2. Bases teóricas**

### **a) Actividad Antioxidante:**

Se conoce como actividad antioxidante total o capacidad antioxidante total a la medición analítica de concentraciones radicales e diferente naturaleza, en un sistema oxidativo controlado. En los vegetales se atribuye esta capacidad a la presencia de compuestos fenólicos, especialmente a los flavonoides. Existe consenso en que la actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de las propiedades quelantes del hierro y captadoras de radicales libres<sup>(23)</sup>.

En este contexto, la amazonia peruana se caracteriza por la gran biodiversidad de recurso naturales de flora y fauna, los cuales son utilizadas con fines medicinales y sociales; es por ello, que aquellas plantas al ser estudiadas por el hombre podrían ser una fuente de nuevos compuestos químicos que aporten soluciones a varios inconvenientes medicinales y nutricionales<sup>(24)</sup>.

Asimismo, Rebatta<sup>(25)</sup>, proporciona información científica y de medicina popular acerca de las plantas antioxidantes, como *Musa paradisiaca* L (plátano burro) que contiene una mezcla compleja de polihidroxifenoles y taninos que inhiben la peroxidación lipídica en el modelo de homogeneizado de cerebro de ratas; *Arachis hypogea* (cacahuete) que duplican la resistencia de las paredes de los vasos sanguíneos en animales de experimentación por la presencia de sustancias con actividad antioxidante; *Theobroma cacao* L. (Cacao), que contienen abundantes polifenoles con comprobadas propiedades antioxidantes.

En la actualidad existen múltiples reportes que demuestran la capacidad antioxidante de plantas, frutas y vegetales que han sido utilizadas en tratamientos médicos tradicionales durante muchos años en diversas partes del mundo. La actividad antioxidante de dichas plantas se debe principalmente a compuestos no nutricionales que presentan una gran actividad biológica, tales como polifenoles, vitaminas y minerales. Entre los polifenoles mayormente encontrados en los materiales vegetales estudiados se encuentran los flavonoides, isoflavonas, flavonas, quercitina, catequinas, isocatequinas y colorantes como betalaínas e indicaxantina<sup>(26)</sup>.

Además, diversos estudios experimentales sobre salud humana confirman la asociación entre la elevada ingesta de vegetales y frutas con el bajo riesgo de padecer enfermedades crónicas, debido a la presencia de una variedad de nutrientes que incluye vitaminas, minerales, fibras, y otras clases de principios activos. Estos principios pueden tener mecanismos de acción superpuestos y complementarios, que incluyen la modulación de las enzimas de detoxificación, el estímulo del sistema inmunológico, la reducción de agregación plaquetaria, la modulación de la síntesis del colesterol y del metabolismo hormonal, la reducción de la presión sanguínea, así como efectos antibacterianos, antivirales y antioxidantes<sup>(27)</sup>.



En este contexto, las investigaciones en el campo de la fitoterapia y la medicina tradicional son temas importantes en el Perú, país de inmensa riqueza en plantas medicinales: domesticadas y silvestres con potencial farmacológico<sup>(28)</sup>.

Por otro lado, la utilización de antirradicales permite que no se manifiesten especies reactivas oxigenadas (por esto se los denomina antioxidantes<sup>(29)</sup>). Dentro de la naturaleza, las plantas nos ofrecen una oportunidad insuperable para el descubrimiento de nuevos compuestos naturales con diversas actividades. Estas plantas están sometidas a una intensa radiación ultravioleta y una alta concentración de oxígeno en su entorno. Pero los efectos nocivos de los radicales libres producidos en estas condiciones, son neutralizados por antioxidantes naturales<sup>(30)</sup>.

De tal manera, un antioxidante es una sustancia que forma parte de los alimentos de consumo cotidiano y que puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos<sup>(31)</sup>. Las propiedades antioxidantes no sólo deben estudiarse por sus interacciones químico-biológicas, sino por su función en el deterioro oxidativo que afecta a los alimentos<sup>(32)</sup>. Se utilizan en la industria alimentaria adicionados a las grasas u otros productos para retrasar los procesos de oxidación, en tanto previenen el comienzo de la rancidez oxidativa (grasas<sup>(33)</sup>).

Del mismo modo, los radicales libres tienen en su estructura uno o más electrones no apareados. Es altamente reactiva y clave para formar otros radicales libres en cadena, además por la vida media que es de microsegundos, ocurre una rápida propagación con moléculas aledañas y mayor daño potencial. De hecho un radical libre puede afectar 1 millón de moléculas durante la reacción en cadena<sup>(34)</sup>. Los compuestos en cuestión forman parte de las llamadas especies reactivas del oxígeno (ERO) o ROS (Reactive Oxygen Species<sup>(35)</sup>).

**b) Clasificación de los antioxidantes:**

Armenteros *et al.* <sup>(36)</sup>, señala que los antioxidantes se pueden clasificar como compuestos endógenos producidos por el organismo o compuestos exógenos suministrados con la ingesta de alimentos de origen vegetal y animal.

Pokorny<sup>(37)</sup>, menciona que los antioxidantes de origen natural son aquellas sustancias que se presentan o pueden ser extraídas de las plantas y aquellas que se forman durante el procesado de compuestos alimenticios.

Sánchez<sup>(38)</sup>, corrobora que los antioxidantes naturales se encuentran presentes en plantas, microorganismos, hongos y en los tejidos animales. En las frutas, las legumbres y algunos vegetales se encuentran muchas sustancias capaces de atrapar radicales libres, mejorando nuestra defensa antioxidante, reportándose que son capaces de detener o prevenir el desarrollo de tumores y los efectos bioquímicos asociados con la progresión de los mismos; este potencial se atribuye, principalmente, a sus propiedades antioxidantes.

**c) Clasificación de las especies vegetales en estudio<sup>(39)</sup>**

**Figura 1 :*Caryocar glabrum* (Aubl.)**



Familia: CARYOCARACEAE

Género: Caryocar

Especie: glabrum

Nombre Científico: *Caryocar glabrum* (Aubl.) Pers.

Nombre vulgar: “almendro colorado”

**Descripción botánica:**

Arboles hasta 50 m; ramitas glabras, pubérulas o glabrescentes, generalmente lenticeladas. Folíolos coriáceos, más o menos asimétricos, subiguales en tamaño, elípticos, estrechamente elípticos a ovado-elípticos, 7–14(18) × 3–9 cm, ápice redondeado o acuminado, base obtusa a redondeada (subcuneada), margen entero a crenulado, a veces revoluto, glabros en ambas caras o a veces con tricomas en las axilas de las venas secundarias; venas secundarias 7–11 pares, planos en la haz, conspicuamente emergentes en el envés, venación terciaria conspicua; estípelas diminutas y caducas (grandes y persistentes); pecíolos 3–10 cm de largo; estípulas caducas. Racimos corimbosos, pedúnculos teretes, glabros o disperso-pubérulos, frecuentemente lenticelados, 3–9 cm de largo, raquis 2–6 cm de largo, pedicelos 10–25 mm de largo, glabros o glabrescentes, crustáceos, articulados en la base y el ápice; cáliz cupuliforme, 7–10 mm de largo, glabrescente, lóbulos redondeados, ciliolados; corola rojo-amarillento, 15–20 mm de largo, lóbulos oblongos, desiguales; estambres rosados a rojos, los del anillo externo ca. 5 cm de largo y tuberculados en el ápice, los del interno tuberculado en toda su longitud. Drupas 5–6 cm de diámetro, globosas a subglobosas, cáliz persistente, pericarpo glabro, crustáceo.

**Habitat:** Se encuentra en tierra firme. En Iquitos Allpahuayo-Mishana, Sucusari Yanchama.

**Usos:** el mesocarpo de los frutos se usa como ictiotóxico; la almendra es comestible; la madera se usa para construcción de plantillas de botes y para postes de potreros –*sinchinas*

**Figura 2: *Tapirira guianensis* (Aubl)**



**Familia: ANACARDIACEAE**

Género: Tapirira

Especie: guianensis

Nombre Científico: *Tapirira guianensis* Aubl.

Nombre vulgar: “wira caspi”

Descripción botánica:

Arboles hasta 30 m; ramitas tomentulosas, con lenticelas dispersas. Hojas con pecíolos 4–7 cm de largo, con folíolos en 2–7 pares, opuestos, oblongo-lanceolados, 8–12(24) × 1.7-4(10) cm, ápice cuspidado, base cuneada, haz glabro, envés pubérulo o glabrado, venas secundarias 10–15 pares, venación terciaria reticulada, inconspicua, peciólulos 2–4 mm de largo. Panículas axilares o subterminales, 7–20 cm × 8–15 cm, pubérulas; flores 1–2 mm de largo, amarillas. Drupas elipsoides, ca. 13 × 10 mm, algo comprimidas, glabras.

Habitat: en planicie inundable estacional. En Iquitos Allpahuayo-Mishana, Sucusari Yanchama.

Usos: frutos comestibles.

**Figura 3: *Virola calophylla* (Spruce)**



**Familia: MYRISTICACEAE**

Género: *Virola*

Especie: *calophylla*

Nombre Científico: *Virola calophylla* (Spruce).

Nombre vulgar: “cumala blanca”

Descripción botánica:

Arboles hasta 20 m; ramitas ferrugíneo-tomentosas. Hojas ovado-oblongas o elíptico-oblongas, 12–45 x 4.5–16 cm, ápice agudo o acuminado, base redondeada o cordada, haz glabra, envés pubescente marrón-amarillento con tricomas estrellado, sésiles, multiramificados; venas secundarias ligeramente emergentes en ambas caras, 8–27 pares, camptódromas a ligeramente en broquidódromo festoneado, venación terciaria subparalela, inconspicua; pecíolos 5–20 mm de largo. Panículas estaminadas ferrugíneo-tomentosas, ca. 20 x 18 cm, flores 2–13 por fascículo, pedicelos 0.5–1 mm de largo; perianto infundibuliforme, 1–1.5 mm de largo, lóbulos obtusos; androceo 0.6–0.9 mm de largo, anteras 3–6, unidas, 0.2–0.4 mm de largo; inflorescencias pistiladas más pequeñas que las estaminadas, flores 2–5 por fascículo, pedicelos

gruesos, 1–1.5 mm de largo; pistilo subgloboso o elipsoide, estigma subsésil. Cápsulas elipsoides u subglobosas, ferrugíneo-tomentosas, cerca 23 × 12 mm.

Hábitat: en tierra firme, bosque primario (ALL-M, SUC, YAN).

Usos: el cambium se utiliza como alucinógeno.

### 1.3. Definición de términos básicos

**Antioxidante:** Los antioxidantes son compuestos que reducen la velocidad de oxidación controlando la formación de radicales libres, los cuales juegan un papel importante en enfermedades degenerativas como cáncer, cataratas, enfermedades neurodegenerativas, aterosclerosis, infecciones, enfermedades inflamatorias crónicas, diabetes, y enfermedades autoinmunes, entre otras. Los antioxidantes derivados de las plantas desde el punto de vista fitoquímico pueden ser taninos, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas, xantonas, ácidos fenólicos, flavones, flavonoles, catequinas, antocianinas y proantocianinas los cuales debido a sus propiedades redox pueden actuar como donadores de hidrógenos y de esta manera prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades degenerativas<sup>(40)</sup>.

Los antioxidantes naturales han alcanzado gran importancia por la relación directa que manifiestan con la disminución del riesgo a producir enfermedades coronarias y cáncer, entre otras. Numerosos antioxidantes, presentes en las frutas y verduras, entre los cuales se encuentran: vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico),  $\beta$ caroteno (pro-vitamina A), compuestos fenólicos y flavonoides, se han relacionado a efectos positivos en la salud debido a su efecto antioxidante<sup>(41)</sup>.

**Radicales libres:** Los radicales libres de oxígeno causan daño oxidativo y este se ha visto implicado en la etiología o patología de más de cien enfermedades diferentes, entre las que se encuentran diferentes tipos de cáncer, enfermedades cardíacas y vasculares, diabetes y desordenes

neurovegetativos. Un radical libre es cualquier molécula que contiene uno o más electrones no apareados. En las células aeróbicas existen diversas vías que conducen a la producción de radicales libres derivados del oxígeno. Las fuentes principales son las enzimas asociadas al metabolismo del ácido araquidónico, como la ciclooxigenasa, la lipooxigenasa y la citocromo P-450<sup>(42)</sup>.

**Estrés oxidativo:** Es el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno y radicales libres, que provocan daño oxidativo a las macromoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes de defensa y esta relacionado con el envejecimiento y con más de 100 padecimientos. El daño celular que producen las especies reactivas de oxígeno y los radicales libres, ocurre en los enlaces de proteínas, los fosfolípidos poliinsaturados de las membranas celulares, hidratos de carbono y ácidos nucleicos, lo que provoca gran variedad de cambios bioquímicos y fisiológicos en la célula, ocasionados por la activación de una reacción en cadena, induciendo a que se presenten diversas enfermedades, como diabetes, aterosclerosis, procesos inflamatorios, el de isquemia/reperfusión, enfermedad de Alzheimer, Parkinson, cataratas, depresión, diversos tipos de cáncer, entre otros<sup>(43)</sup>.

**Sistemas antioxidantes de defensa:** Son sistemas de desintoxicación que tiene la propia célula para desintoxicarse de los ERO, son de carácter enzimático y no enzimático y que mantienen al organismo sano en un estado de equilibrio redox.

**Antioxidantes endógenos:** Son sistemas enzimáticos, Superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y los sistemas enzimáticos de regeneración del glutatión. Los antioxidantes no enzimáticos: Algunas proteínas plasmáticas y el glutatión (GSH).

**Antioxidantes exógenos:** Son antioxidantes que provienen de la dieta, ejemplo de algunos de ellos tenemos: ácido ascórbico, los carotenoides, los tocoferoles, los retinoides, los compuestos fenólicos, flavonoides, las antocianinas, entre otros.

**Dosis:** Concentración de una sustancia, medicamento o droga que se ingiere.

**Extractos vegetales:** Es una sustancia obtenida de una materia prima de naturaleza vegetal, a menudo se utiliza un solvente que puede ser agua o diferentes tipos de alcoholes.



## CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS

### 2.1. Variables y su operacionalización

#### 2.1.1. Variables

Variable Independiente (X): Extractos metanólicos de hojas de tres especies vegetales.

Variable Dependiente (Y): Actividad Antioxidante. Ácidos grasos de los ratones.

Variables	Definición conceptual	Indicador	Índice	Pregunta
<p><u>Independiente:</u> Extractos metanólicos de hojas tres especies vegetales.</p>	<p>Variable Independiente: Extractos metanólicos de hojas: Muestras maceradas en metanol para extraer los principios activos responsables de la actividad antioxidante.</p>	<p>Diferentes concentraciones de los extractos metanólicos.</p>	<p>mg/mL</p>	<p>Presentarán actividad antioxidante in vitro y efecto de los extractos de <i>Virola calophylla</i> (Spruce), <i>Caryocar glabrum</i> (Aubl.) y <i>Tapirira guianensis</i> (Aubl.) en los ácidos grasos de <i>Mus musculus</i>. Región Loreto.</p>
<p><u>Dependiente:</u> Actividad Antioxidante. Ácidos grasos de ratones..</p>	<p>Dependiente: Actividad antioxidante: Características químicas de cada extracto vegetal. Ácidos grasos de ratones</p>	<p>1. Actividad Antioxidante <i>in vitro</i>: Porcentaje de inhibición del DPPH. Concentración inhibitoria media- IC 50</p> <p>2. Efecto de los extractos en los ácidos grasos de <i>Mus musculus</i> : Concentración de las hojas de los extractos vegetales.</p>	<p>% mg/mL µL</p>	

## 2.2. Formulación de la hipótesis

Los extractos metanólicos de *Virola calophylla* (Spruce), *Caryocar glabrum* (Aubl.) y *Tapirira guianensis* (Aubl.) si presentan actividad antioxidante *in vitro* y poseen efecto en los ácidos grasos debido a su alto contenido de compuestos fenólicos.

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Tipo y diseño de investigación

El tipo de investigación fue descriptivo y transversal, en el que se determinó la actividad antioxidante *in vitro* y efecto de los extractos de *V. calophylla* (Spruce), *C. glabrum* (Aubl) y *T. guianensis* (Aubl.) en el perfil de ácidos grasos de *Mus musculus*. Región Loreto.

**Descriptivo:** Se obtuvo una visión más precisa de las características fundamentales del problema.

**Transversal:** Se analizó el problema en un tiempo determinado, dejando a un lado sus posibles causas y manifestaciones anteriores.

Diseño de investigación experimental del tipo cuantitativo, con énfasis en estadística descriptiva, porque se obtuvo datos para medir la actividad antioxidante *in vitro* y el efecto de los extractos de las plantas sobre los organismos.

### 3.2. Población y muestra

- **Población:** Vegetales nativos de la comunidad Tamshiyaco- Tahuayo de la Región Loreto.
- **Muestra:** Especies vegetales de *V. calophylla* (Spruce), *C. glabrum* (Aubl.) y *T. guianensis* (Aubl.).

**Criterios de inclusión:**

- Ratones albinos, machos de 8 semanas de 25 a 40 g de peso de la especie *Mus musculus*. Para ensayos de actividad antioxidante.

### 3.3. Técnicas e instrumentos

La técnica empleada estuvo basada en la observación; se procedió a obtener la información directa de la capacidad de biorremediación, de las variables físico-químicos utilizando métodos: Electrométrico (pH), Colorimétrico (Amonio, Nitratos), Espectrofotométrico (Fósforo) y Volumétrico (Alcalinidad, Anhidrido Carbónico, Cloruros y Dureza).

Los instrumentos empleados fueron fichas/ guías de observación que se emplearon para la colecta, aislamiento, crecimiento del cultivo microalgal, resultados del análisis químico y de la capacidad de biorremediación de las microalgas.

### 3.4. Procedimientos de recolección de datos

#### 3.4.1. Ensayo de la actividad antioxidante “*in vitro*”

##### a. Colecta de las especies vegetales, preparación de extractos:

Se colecto, hojas de *V. calophylla* (Spruce), *C. glabrum* (Aubl.) y *T. guianensis* (Aubl.), de las familias Myristicaceae, Caryocaraceae y Anacardiaceae respectivamente, procedente de la comunidad Tamshiyaco- Tahuayo de la Región Loreto.

##### b. Transporte y Selección de muestras:

Las hojas colectadas fueron transportadas y seleccionadas en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ingeniería Química, teniendo en cuenta los siguientes criterios:

- Selección de hojas verdes y frescas.
- Limpieza de las hojas seleccionadas, con agua destilada y papel secante.
- Almacenamiento de las hojas limpias en sobres de manila debidamente rotuladas.

**c. Secado y pulverizado de las especies vegetales (Instituto de Medicina Tradicional – IMET):**

Las muestras vegetales fueron cortadas en pequeños fragmentos y se secaron a 35°C durante 7 días, posteriormente las muestras secas se pulverizaron con la ayuda de un mortero y se conservaron en frascos ámbar de 500 mL para su posterior utilización.

**d. Ensayo de la Actividad Antioxidante in vitro con DPPH:**

La determinación de la actividad antioxidante en especies vegetales se realizó por el método de DPPH (Radical libre 1,1-difinil-2-picril-hidrazilo con pureza del 99,9%), siguiendo la metodología de (Sotero *et al*, 2009), para determinar el porcentaje de inhibición antioxidante del extracto vegetal frente al radical libre DPPH y la concentración inhibitoria media al 50% (IC50).

- **Reactivos:**

Radical libre 1,1-difinil-2-picril-hidrazilo (DPPH\*) con pureza del 99.9%. En el trabajo por espectrofotometría se utilizó el solvente metanol de grado analítico.

- **Preparación del DPPH:**

Para 1 mMol de DPPH (Peso molecular = 394.32 g/mol).

En una fiola de 10 mL (color ámbar), se peso 3.9 mg de DPPH y se aforó con metanol 95% (metanol/agua).

Para 0.1 mMol de DPPH.

En una fiola de 10 mL (color ámbar), se adicionó 1 mL de la solución de DPPH de 1 mMol y se aforó con metanol 95%.

**e. Extracción de las especies vegetales:**

En una fiola de 10 ml (color ámbar) se pesó 50 mg de muestra (hojas secas y pulverizadas) y se aforó con metanol grado analítico, para obtener la solución madre de 5 mg/ml.

De la solución Madre (5 mg/mL) se prepararon soluciones de 0,01, 0,05, 0,1, 0,25 , 0,5 y 5,0 mg/mL.

**f. Lectura por espectrofotometría Uv/vis.:**

La lectura se realizó por espectrofotometría Uv/vis a 517 nm, en una cubeta de poliestireno se adicionaron 1.0 ml de DPPH 0.1 mMol, y en otra cubeta se adicionó 0,025 mL del extracto vegetal y 0,975 mL del reactivo de DPPH 0,1 mMol, la lectura se realizó cada 30 segundos por 5 minutos. La inhibición del secuestro radical DPPH por soluciones crecientes de los extractos, se determinó por la expresión siguiente. Inhibición de DPPH, %= [(Ac-Am)/Ac] x100

Dónde: Ac, es la absorbancia del control (DPPH 0,1 mMol) y Am es la absorbancia de la muestra (soluciones crecientes de los extractos) en tiempo n.

**3.4.2. Determinación de fenoles totales:**

**1. Determinación de fenoles totales <sup>(42)</sup>**

**a. Extractos para Fenólicos Totales:**

Con tres volúmenes de 25 mL de etanol absoluto, acidulado con 1 % de ácido fórmico, se extrajo 0,5 gramos de muestra seca y pulverizada, el extracto formado se puso a sequedad en una estufa a 40°C, hasta que volatice el etanol. El residuo seco se disolvió en una solución de metanol al 50 %, acidulado con 1 % de ácido fórmico y se llevó a un volumen de 10 ml, se guardó a -20°C hasta su análisis.

**a.1. Antocianinas y Flavonoides Totales:**

En una cubeta de poliestireno de 1,5 mL se adicionó 1 mL del extracto preparado en el punto A, se determinó antocianinas y flavonoides por espectrofotometría UV/vis a una absorbancia de 535 nm y 374 nm respectivamente.

### **a.2. Fenólicos Totales:**

Mediante el índice de Folin se determinó el contenido de fenólicos totales, en un tubo de centrifuga (15 mL) se adicionó 40 µL de extracto con 0,5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu y 2 mL de carbonato sódico al 20% (p/v), enrasando a 10 mL. Transcurrida media hora, se efectuó la lectura por espectrofotometría a una absorbancia de 700 nm. Los compuestos fenólicos se determinan mediante la ecuación de la curva de calibración estándar  $Y = 0.7083X + 0.0149$  y regresión lineal 0.9993. (Anexo 10)

### **a.3. Catequinas y Proantoacionidoles:**

Se determinó el contenido de catequina y Proantoacionidoles con el ensayo de vainillina, mezclando 0,5 mL del extracto, 1,25 mL de vainillina en metanol al 1% (p/v) y con 1,25 mL de ácido sulfúrico al 25% (v/v) en metanol. El blanco se preparó simultáneamente del mismo modo, pero sustituyendo la solución de vainillina por metanol. Pasado los 15 minutos, se efectuó la lectura por espectrofotometría a una absorbancia de 510 nm. Los compuestos de catequinas y Proantocianidoles se determina mediante la ecuación de la curva de calibración estándar  $Y = 0.04651X + 0.03283$  y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.9964. Para cada lectura se usó como control metanol grado analítico.

### **3.4.3. Procedimiento del efecto de los extractos en los ácidos grasos de *Mus musculus*:**

El procedimiento del efecto de los extractos en los ácidos grasos de *Mus musculus* se realizó de acuerdo a las siguientes etapas:

#### **a. Preparación de los extractos:**

Los extractos acuosos de las hojas de *V. calophylla* (Spruce), *C. glabrum* (Aubl.) y *T. guianensis* (Aubl.), fueron cortadas en pequeños fragmentos y secados a 35°C durante 7 días,

posteriormente se peso 5 gr de las muestras secas pulverizadas, las mismas que fueron disueltas en 80 mL de metanol químicamente puro y macerados por 7 días a temperatura de 8°C. y conservadas en frascos de color ámbar de 500 mL para posterior utilización en los animales de los grupos experimentales.

**b. Preparación de la solución acuosa de glucosa al 1%:**

Fue equivalente a la concentración del contenido de azúcar de los extractos evaluados. Para ser utilizada con los animales del grupo control.

**c. Experimento con los animales de laboratorio:**

Se utilizaron 32 ratones machos albinos de la especie *Mus musculus*, adultos, obtenidos a partir de la colonia procedente del bioterio del Instituto de Medicina Tropical (IMET- Iquitos); los ratones fueron pesados al inicio del experimento y luego cada siete días.

**d. Grupos de ratones para el experimento:**

Los ratones fueron divididos aleatoriamente en 4 grupos de 8 animales y colocados en jaulas de acero inoxidable. Las mismas que fueron identificadas como grupo "control", "*V. calophylla*" (Spruce), "*C. glabrum*" (Aubl.) y "*T. guianensis*" (Aubl.), los ratones del grupo control recibieron diariamente por alimentación forzada durante 28 días 200 µL de solución de glucosa al 1%; igualmente los ratones de los grupos de *V. calophylla* (Spruce), *C. glabrum* (Aubl.) y *T. guianensis* (Aubl.), recibieron 200 uL de los extractos respectivos. La alimentación y manipulación de los ratones se realizó en una sala de alojamiento acondicionada a una temperatura de 23°C.



**e. Obtención de las muestras para los ensayos del efecto en los ácidos grasos de ratones albinos *Mus musculus*:**

- Los 32 ratones albinos *Mus musculus* cepas BALB/c/CNPB, fueron agrupados en 4 grupos de 8 individuos, a quienes se les administraron durante 28 días 200 µL de glucosa (grupo 1), 200 µL de extracto metanólico de *Virola calophylla* (grupo 2), *Caryocar glabrum* (grupo 3) y *Tapirira guianensis* (grupo 3).
- Posteriormente los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical, luego se procedió a colectar muestra de sangre en tubos de centrifuga conteniendo 200 ul de EDTA al 5% y centrifugados a 4,000 rpm durante 20 minutos para la colecta de plasma que fue acondicionado en tubos de *eppendorf*.
- La muestra de hígado y cerebro fueron colectados por disección y acondicionados individualmente en papel de aluminio. El plasma junto con las demás muestras biológicas fueron etiquetados y almacenados a una temperatura de -80°C, para los análisis posteriores.

Grupos Experimentales	Ensayos
Control	8 animales recibiendo 200 µL de glucosa al 1%.
<i>V. calophylla</i> (Spruce)	8 animales recibiendo 200 µL de extracto metanólico de <i>Virola calophylla</i> (Spruce.).
<i>C. glabrum</i> (Aubl.)	8 animales recibiendo 200 µL de extracto metanólico de <i>Caryocar glabrum</i> (Aubl.).
<i>T. guianensis</i> (Aubl.)	8 animales recibiendo 200 µL de extracto metanólico de <i>Tapirira guianensis</i> (Aubl.).

**f. Evaluación del efecto de los extractos vegetales en los ácidos grasos en *Mus musculus*:**

La evaluación del efecto de los extractos vegetales en los ácidos grasos en *Mus musculus* se realizó de la siguiente manera:

Obtención de la fracción lipídica

Para la obtención de la fracción lipídica del material biológico, (plasma, hígado y cerebro de los ratones) se utilizó el método descrito por Sotero<sup>(14)</sup>.

Se pesaron 1 g. de cada muestra biológica para ser homogeneizadas por 2 minutos con 10 mL de metanol. Posteriormente, se añadieron 20 mL de cloroformo y la mezcla se homogenizó durante 5 minutos. El sobrenadante se filtró en un embudo *Büchner* y el residuo se extrajo de nuevo por 1 minuto con 30 mL de cloroformo/metanol (1:1). El filtrado se recogió en probeta de 250 mL y  $\frac{1}{4}$  de este volumen se añadió solución acuosa de KCl 0,88% se agitó manualmente y se dejó reposar hasta la separación de fase. La parte superior se aspiró a vacío y se descartó. Se midió el volumen para ser añadida  $\frac{1}{4}$  de la mezcla de metanol/agua (1: 1). La mezcla se homogeneizó manualmente y se dejó reposar hasta la separación de las fases. La fase superior se eliminó por aspiración a vacío, y la fase inferior se filtró a través de sulfato de sodio anhidro y recogido en un balón de fondo redondo y llevado al rotavapor para la evaporación del solvente a la temperatura de 40°C.

La fracción lipídica se resuspendió en 5 mL de cloroformo, se colocaron en frasco de color ámbar y se almacenaron a -18 °C para su posterior esterificación.

Esterificación e identificación de los ácidos grasos

La esterificación de los ácidos grasos fue realizada según la técnica propuesta por Sotero<sup>(14)</sup>.

En tubos de esterificación se colocaron 0,1 ml de las fracciones lipídicas obtenida en el ítem (4.2.5.) y el solvente se evaporó bajo atmósfera de nitrógeno. Luego se añadió 2 ml de NaOH metanólico 0,5 N, se lleva a un baño maría a 100°C por 5 minutos. Después de enfriados se añadieron 6 ml de mezcla de esterificación, en seguida se lleva a un baño maría a 100°C por 3 minutos. Después de enfriados se añadieron 5 ml de agua destilada y se agitó. La fracción de los ésteres metílicos se extrajo con tres porciones sucesivas de 2 mL de hexano. En la fase orgánica superior extraída se añadieron 5 ml de una solución saturada de bicarbonato de sodio donde ocurrió la separación en dos fases. La fase superior se transfirió a otro tubo y se evaporó el solvente en rotavapor a una temperatura controlada de 40°C, el residuo se resuspendió en 1 mL de hexano.

Para la identificación del perfil de los ácidos grasos las muestras se enviaron al laboratorio de Biotecnología de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

### **3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos**

Para el análisis de los datos se utilizó la estadística descriptiva, utilizando el programa de Excel para organizar la información en texto y cuadros. Los análisis comparativos fueron evaluados mediante el ANOVA para datos no paramétricos, con un nivel de significancia de  $p < 0,05$ .

### **3.6. Protección de los derechos humanos**

En el trabajo de investigación se aplicó normas de bioseguridad en los laboratorios para salvaguardar la integridad y protección personal y para la obtención de la muestras vegetales se aplicó la extracción sostenible de los recursos naturales. Asimismo, el uso de animales de laboratorio exige cumplir estrictas normas de conducta donde prime el respeto por la vida y la integridad de los mismos, evitando sufrimientos innecesarios. Artículo 3 de los Principios éticos básicos de la experimentación animal<sup>(45)</sup>. “Toda persona que emplee animales con fines experimentales debe tener presente que están dotados de sensibilidad y memoria y son susceptibles al dolor y al sufrimiento”.

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS

Los resultados de la evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* de los extractos metanólicos de las especies vegetales de *V. calophylla* (Spruce), *C. glabrum* (Aubl), y *T. guianensis* (Aubl), de la comunidad Tamshiyacu Tahuayo de la Región Loreto, a través del método de inhibición del DPPH, utilizando concentraciones de (0,01; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 5,0 mg/mL) tuvieron una tendencia de : a mayor concentración, mayor porcentaje de inhibición, donde la especie de *C. glabrum*, alcanzó el mayor porcentaje de inhibición con 74,2%, *V. calophylla* con 62,7% y *T. guianensis*, con un porcentaje de inhibición de 57,4%. (Tabla 1)

**Tabla 1:** Especies vegetales con sus respectivos porcentajes de inhibición

N° MUESTRA	EXTRACTO METANÓLICO (MUESTRA SECA)						IC <sub>50</sub> mg/ mL
	Concentraciones (mg/mL) Porcentaje de Inhibición (517 nm)						
	5,0 mg/mL	0,5 mg/mL	0,25 mg/mL	0,1 mg/mL	0,05 mg/mL	0,01 mg/mL	
<i>Virola calophylla</i>	62,7	27,0	18,5	6,6	5,7	4,9	3,5
<i>Cariocar glabrum</i>	74,2	24,6	18,4	8,2	6,9	3,9	2,8
<i>Tapirira guianensis</i>	57,4	19,1	14,1	8,0	6,7	6,3	4,1

Fuente: Datos del Tesista

En la tabla 1, se muestra que, la especie de *C. glabrum*, alcanzó el mayor porcentaje de inhibición con 74,2% a una concentración de 5,0 mg/mL y *T. guianensis* con una concentración menor de 57,4 mg/mL.

**Tabla 2:** Compuestos fenólicos en las especies vegetales

ESPECIES	Antocianinas mg/100g	Flavonoides mg/100g	Fenolicos mg/100g	Catequinas y Proantocianidinas mg/100g
<i>Virola calophylla</i>	71,3	143,9	18 580,8	0,16
<i>Caryocar glabrum</i>	93,9	144,3	15 180,7	0,18
<i>Tapirira guianensis</i>	41,9	144,1	11 568,7	0,10

Fuente: Realización propia

En la tabla 2, se muestra que *C. glabrum* presento valores altos de antocianinas , con 93,9 mg/100g, con respecto a *V. calophylla* que presentó 71,3 mg/100g y *T. guianensis* con 41,9 mg/100g respectivamente. Mientras que en flavonoides, *V. calophylla*, *C. glabrum* y *T. guianensis* presentaron valores de 143,9 mg/100g, 144,3 mg/100g y 144,1mg/100g. Con respecto a fenólicos *V. calophylla* presento valores mas elevados con 18 580,8 mg/100g y con respecto a las catequinas y proantocianidinas las tres especies vegetales presentaron valores muy bajos.

**Tabla 3:** Perfil de ácidos grasos del Hígado.

Ácido graso (%)	Glucosa (200 µL)	<i>Virola calophylla</i> (200 µL)	<i>Caryocar glabrum</i> (200 µL)	<i>Tapiria guianensis</i> (200 µL)
<b>SATURADOS</b>				
Ácido Hexadecanoico	24.84 ± 9.07	17.69 ± 12.31	22.84 ± 3.15	26.91 ± 1.18
Ácido Octadecanoico	n/d	17.29 ± 4.76	14.4 ± 4.14	n/d
Ácido Heptadecanoico	18.48 ± 5.06	n/d	9.23 ± 4.86	12.27 ± 2.31
<b>MONOINSATURADOS</b>				
Ácido Octadecenoico	28.69 ± 2.89	12.41 ± 9.37	15.81 ± 11.06	16.07 ± 4.55
Ácido Oleico	6.04 ± 3.47	7.37 ± 1.43	2.43 ± 0.64	20.43 ± 4.10
Ácido Hexadecenoico	n/d	8.8 ± 6.56	2.46 ± 2.44	3.72 ± 1.70
<b>POLIINSATURADOS</b>				
Ácido Octadecadienoico	21.60 ± 5.48	18.6 ± 3.81	22.41 ± 2.38	24.6 ± 1.07
Ácido Araquidónico	n/d	17.54 ± 7.60	14.16 ± 0.70	15.73 ± 0.98

Fuente: datos del Tesista

Leyenda: n/d= no detectado

En la tabla 3, se muestra el perfil de ácidos grasos de los hígados de los ratones del grupo control y de los ratones del grupo experimental que recibieron los extractos acuosos de las muestras *V. calophylla*, *C. glabrum* y *T. guianensis*, observándose una mayor incidencia de ácidos grasos saturados y monoinsaturados.

**Tabla 4:** Perfil de ácidos grasos del cerebro

Ácido graso (%)	Glucosa (200 µL)	<i>Virola calophylla</i> (200 µL)	<i>Caryocar glabrum</i> (200 µL)	<i>Tapiria guianensis</i> (200µL)
<b>SATURADOS</b>				
Ácido Hexadecanoico	n/d	16.9 ± 3.67	24.46 ± 2.07	n/d
Ácido Propionico	n/d	20.92 ± 1.48	n/d	n/d
Ácido Heptadecanoico	n/d	n/d	12.44 ± 1.68	n/d
Ácido Octadecanoico	40.17 ± 9.37	n/d	18.35 ± 1.49	n/d
<b>MONOINSATURADOS</b>				
Ácido Octadecenoico	n/d	16.81 ± 3.45	12.92 ± 2.91	14.37 ± 2.40
Ácido Oleico	24.85 ± 5.35	13.95 ± 2.20	4.73 ± 2.82	37.66 ± 3.74
Ácido Decosanoico	n/d	n/d	n/d	22.69 ± 5.14
<b>POLISATURADOS</b>				
	n/d	n/d	n/d	n/d

Fuente: datos del Tesista

Leyenda: n/d = no detectado

En la tabla 4, se puede observar que en los grupos experimentales de *V. calophylla*, *C. glabrum* y *guianensis*, hubo un incremento en el contenido de ácido oleico y el ácido octedecenoico, mientras que los ácidos poliinsaturados no fueron detectados en el grupo control, ni en los grupos experimentales.



**Tabla 5:** Perfil de ácidos grasos del plasma

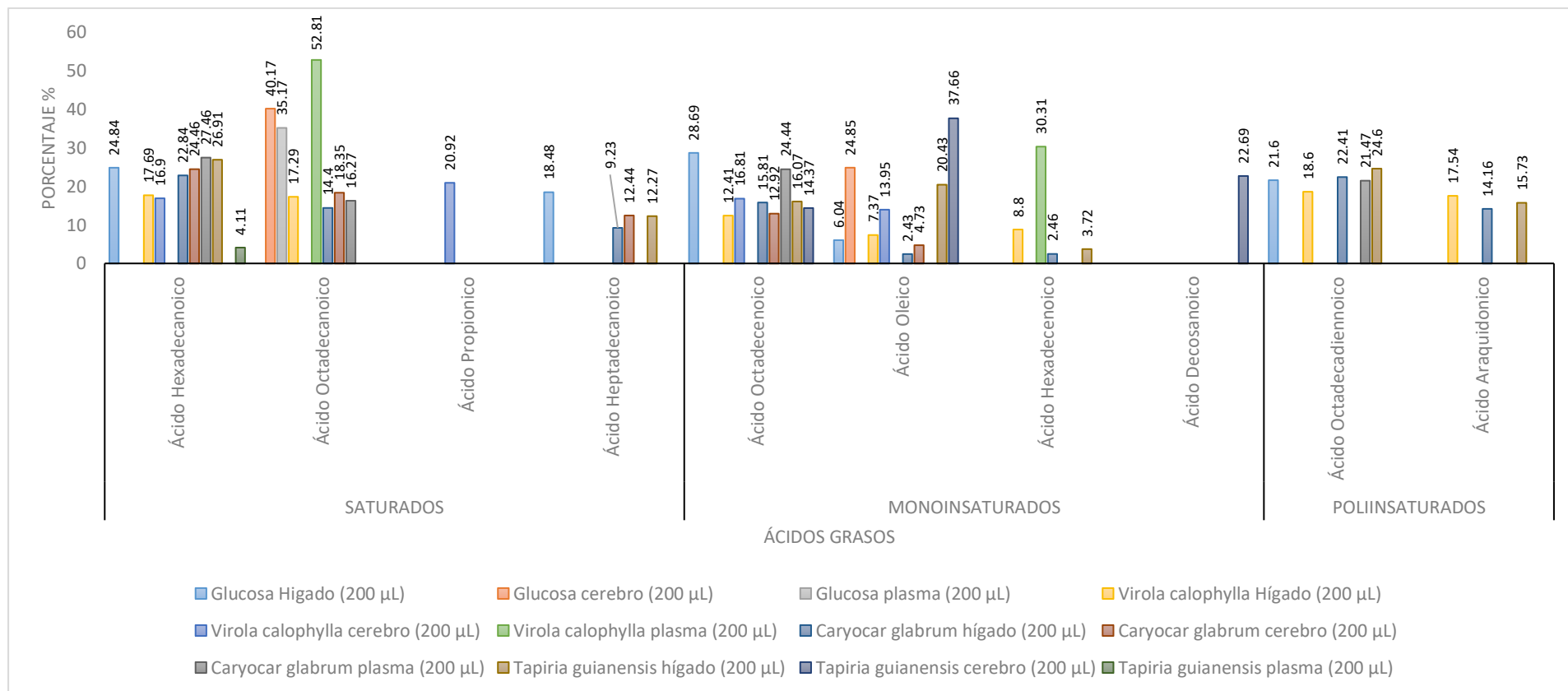
Ácido graso (%)	Glucosa (200 µL)	<i>Virola</i> <i>calophylla</i> (200 µL)	<i>Caryocar</i> <i>glabrum</i> (200 µL)	<i>Tapiria</i> <i>guianensis</i> (200 µL)
<b>SATURADOS</b>				
Ácido Octadecanoico	35.17 ± 9.43	52.81 ± 18.46	16.27 ± 3.97	n/d
Ácido Hexadecanoico	n/d	n/d	27.46 ± 7.69	4.11 ± 3.22
<b>MONOINSATURADO</b>				
Ácido Hexadecenoico	n/d	30.31 ± 2.52	n/d	n/d
Ácido Octadecenoico	n/d	n/d	24.44 ± 3.47	n/d
Ácido Decosanoico	n/d	n/d	n/d	n/d
<b>POLISATURADOS</b>				
Ácido Octadecadienoico	n/d	n/d	21.47 ± 4.03	n/d

Fuente: datos del Tesista

Leyenda: n/d = no detectado

En la tabla 5, se presentan los ácidos grasos del plasma de los ratones control y de los ratones experimentales; observándose mayores contenidos de los ácidos grasos saturados en comparación con los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturado, individualmente se destaca la presencia del ácido octadecanoico.

**GRAFICO 1:** Presencia de ácidos grasos en hígado, cerebro y plasma de ratón albino *Mus musculus*



Fuente: Realización propia

## CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Para determinar la actividad antioxidante *in vitro* y verificar su efecto a nivel de ácidos grasos en ratones *M. musculus*, se utilizó tres extractos vegetales de la Amazonía Peruana: *V. calophylla* (Spruce), *C. glabrum* (Aubl), y *T. guianensis* (Aubl), basados en el contexto del conocimiento etnobotánico y la gran biodiversidad de recursos naturales de flora y fauna, los cuales son utilizadas con fines medicinales y sociales; es por ello, que las plantas al ser estudiadas por el hombre podrían ser una fuente de nuevos compuestos químicos que aportan soluciones a varios inconvenientes medicinales y nutricionales<sup>(24)</sup>.

En la evaluación antioxidante por el método DPPH de los extractos metanólicos de *V. calophylla* (Spruce), *C. glabrum* (Aubl), y *T. guianensis* (Aubl), se obtuvo un IC<sub>50</sub> de 3,5; 2,8 y 4,1 mg/mL respectivamente (tabla 1), estudios similares fue realizado por Sotero *et al* <sup>(10)</sup> quienes evaluaron la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del fruto *Myrciaria dubia* “camu camu”, utilizando el método por reducción del radical 1,1- difenil-2-pierilhidrazil (DPPH), con absorbancia de 515 nm, reportando una elevada actividad antioxidante en la cáscara de camu camu con IC<sub>50</sub> de 146,94 µg/mL, seguido de la pulpa con 167, 67 µg/mL y con menor actividad antioxidante la semilla con 399,77 µg/mL, demostrando que las pulpas y cáscara de camu camu presentan una apreciable actividad antioxidante “*in vitro*”, resultado que podrían corroborar que los extractos en estudios podrían ser una fuente de oxidantes naturales que podrían actuar como un agentes terapéutico para prevenir o retardar el estrés oxidativo <sup>(29)</sup>.

En el estudio se demostró que la actividad antioxidante medida con los valores de IC<sub>50</sub> de los extractos metanolicos de las especies vegetales, mientras más bajo sea el IC<sub>50</sub>, indica la mayor capacidad de los extractos para actuar como captadores de radicales DPPH.

Estudios, similares realizado por Camacho<sup>(21)</sup> corroboran que la actividad antioxidante ocurre también por los diversos compuestos presentes en los vegetales que tienen la propiedad de actuar como antirradicales o antioxidantes y López *et al*<sup>(22)</sup> menciona que los campos de aplicación de los antioxidantes son muy variados; además de terapias farmacológicas también tiene interés como suplementos nutricionales, ingredientes cosméticos para evitar el envejecimiento cutáneo, alimentos funcionales y como conservantes alimentarios <sup>(44)</sup>.-

Asimismo, los extractos metanólicos de las tres especies en estudio (tabla 2), evidenciarán la presencia de compuestos como: Antocianinas, Flavonoides, Fenoles, Catequinas y Proantocianidinas, diversos estudios señalan la presencia de estos, que se originan principalmente en las plantas en grandes cantidades como producto de su metabolismo secundario<sup>(46)</sup>. Algunos son indispensables para las funciones fisiológicas vegetales, otros participan en funciones de defensa ante situaciones de estrés y diversos estímulos. Por lo que la actividad antioxidante, podría deberse a la gran concentración de estos compuestos fenólicos como: fenoles y flavonoides.

De estudios previos, se piensa que la capacidad antioxidante en los vegetales se atribuye a su capacidad de metabolizar compuestos fenólicos, especialmente los flavonoides. Existiendo consenso en que la actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de las propiedades quelantes del hierro y captadoras de radicales libres.<sup>(23)</sup> Asimismo, existen muchos estudios que verifican la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos *in vitro*, por lo que queda abierta la posibilidad de realizar estudios que establezcan su composición química para que se garantice su uso como sustancias antioxidantes.

De acuerdo con los datos del perfil de ácidos grasos del hígado de los ratones del grupo control y de los ratones de los grupos experimentales presentados en la tabla 3, se puede observar una mayor incidencia de ácidos grasos saturados y ácidos grasos monoinsaturados y en menor incidencia los ácidos poliinsaturados, es posible que la presencia de estos ácidos este relacionado

con la acción protectora de los compuestos fenólicos en los extractos administrados.

Se puede atribuir a la presencia de los ácidos grasos monoinsaturados a la acción de los compuestos fenólicos de los extractos administrados, una vez que actuaría como antioxidantes de los ácidos grasos. Asociando la información entre el perfil de los ácidos grasos monoinsaturados (Tabla 3) verificamos que hubo incremento en la concentración de los ácidos oleico y octadecenoico en los grupos experimentales en relación al control, se puede decir que existe una fuerte evidencia de la acción inhibidora de los compuestos fenólicos de los extractos sobre el proceso oxidativo en el tejido.

Del mismo modo los resultados del perfil de ácidos grasos de los cerebros de los ratones del grupo control y de los ratones de los grupos experimentales presentados en la tabla 4, se puede observar que en los grupos experimentales *V.calophylla*, *C. glabrum* y *T. guianensis* hubo un incremento en el contenido de ácido oleico, así como el ácido octadecenoico tuvo tendencias similares en los tres extractos, lo que lleva a suponer que también en el cerebro los extractos administrados a los ratones presentaron acción antioxidante, acentuándose la evidencia de la acción protectora de los compuestos fenólicos de los extractos probados.

Con respecto a la presencia de los ácidos grasos en el plasma de los ratones control y de los ratones experimentales; se pudo constatar mayor contenido de los ácidos grasos saturados en comparación con los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturado, individualmente se destaca la presencia del ácido octadecanoico. Estos valores incrementados sugieren que los compuestos fenólicos pudieran ser absorbidos y transportados a través del plasma para alcanzar los tejidos estudiados del hígado y cerebro, teniendo una acción protectora durante todo el proceso fisiológico y metabólico de los animales<sup>(13)</sup>.

Teniendo en cuenta los resultados promisorios obtenidos en este estudio, los beneficios para la salud unidos con la ingesta de estos compuestos en la dieta no están aún comprobados totalmente, debido sobre todo a la absorción y a la efectividad en aumentar el mecanismos de protección, así como los niveles adecuados de consumo en la dieta<sup>(5)</sup>.

## CAPÍTULO VI: PROPUESTA

Diversos estudios han aportado datos sobre el beneficio del consumo cotidiano de vegetales con componentes antioxidantes, sobre todo de frutas y verduras y la protección que pueden proporcionar para prevenir los riesgos de padecimientos, aunque se reitera que se requieren más estudios.

En este contexto, la amazonía peruana se caracteriza por la gran biodiversidad de recursos naturales de flora y fauna, los cuales son utilizadas con fines medicinales y sociales; es por ello que aquellas plantas al ser estudiadas por el hombre podrían ser una fuente de nuevos compuestos químicos que aporten soluciones a varios inconvenientes medicinales y nutricionales.

Este estudio trata de corroborar con el desarrollo de las investigaciones en el campo de la fitoterapia y la medicina tradicional que son temas importantes en el Perú, país de inmensa riqueza en plantas medicinales domesticadas y silvestres con potencial farmacológico. Por consiguiente el conocimiento que se obtenga de las propiedades antioxidantes de los vegetales nos permitirá percibir la necesidad de realizar otros estudios en esa misma línea visando una adecuación de la dosis con el efecto, y la obtención de mayores informaciones sobre la seguridad en el consumo de antioxidantes naturales para el humano.

Por tanto, se plantea orientar los estudios de investigación con especies vegetales de los diversos ecosistemas de la amazonía peruana, desarrollando ensayos *in vitro* e *in vivo* de la evaluación de los metabolitos secundarios, con posible capacidad antioxidante, antibacteriana, alelopática, investigando sus principios activos que podría ser utilizado por la industria farmacéutica.

## CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES

- De las especies vegetales en estudio, *Caryocar glabrum* presentó altos valores antioxidantes a una concentración de 5,0 mg/mL..
- Los extractos metanólicos de las tres especies vegetales, presentaron compuestos fenólicos tales como: antocianinas, flavonoides, fenoles, catequinas y proantocianidinas, evidenciado capacidad protectora frente a la oxidación.
- La presencia de ácidos grasos monoinsaturados en el hígado y cerebro evidencian la oxidación de los compuestos fenólicos presentes en los extractos de las muestras.
- A nivel de plasma, entre los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturado, sólo se evidenció el ácido hexadecenoico y el ácido octadecadienoico.



## **CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES**

- Identificar metabolitos secundarios con mayor capacidad antioxidante en otras especies vegetales y determinar su grado de toxicidad para aplicar en pruebas de pre clínica y de esa manera contribuir a otros campos de la investigación.
- Fraccionar los extractos vegetales por columnas cromatográficas para verificar su actividad antioxidante a través de CG-Masa y de esa manera identificar nuevos compuestos que podrían tener acción benéfica para el ser humano.

## CAPÍTULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pérez Jiménez J. Efecto de fibra antioxidante de uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos. [Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias - Departamento de Química Física Aplicada]. España: Universidad Autónoma de Madrid; 2007.
2. Quiñonez GJ, Trujillo R, Capdesuñer Y, Quirós Y, Hernández De La Torres M. Potencial de actividad antioxidante de extractos fenólicos de *Theobroma cacao* L. (cacao). *Rev Cubana de Plantas Medicinales*. 2013; 18 (2): 201-215
3. Echavarría ZB, Francos SA, Martínez MA. Evaluación de la Actividad Antioxidante y Determinación del Contenido de Compuestos Fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe Colombiano. *Rev. de la Facultad de Química Farmacéutica (Colombia)*. 2009; 16 (1) : 126-131
4. Delgado L, Betanzos G, Sumaya T. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo 2010; 10-15 pp. [Revista virtual]. [Recuperado el 12 de mayo 2017] Disponible en : <http://www.redalyc.org/articulo>.
5. García D, Sotero V, Mancini D, Pavan P, Mancini J. Evaluación de la Actividad Antioxidante “*in vivo*” de Tres Frutos de la Amazonía: *Gustavia augusta* L., *Grias neuberthii* Macbr y *Theobroma bicolor*. *Rev Soc. Quím Perú*. 2011: 77 (1) .
6. Coba P, Mayacu L, Vidari G. Importancia de la actividad antioxidante y evaluación de extractos en etanol del género *Oryctanthus* 2010; 11(1): 22-30 pp. [Revista virtual]. [Recuperado el 24 de mayo 2017] Disponible en: [Dialnet. unirioja.es/servlet / artículo](http://Dialnet.unirioja.es/servlet/articulo).
7. Muedas Taipe G. Estudio químico y de actividad antioxidante de la *Bauhinia guianensis* var. *Kuntiana* Aubl. [Tesis para Optar el Grado Académico de Magister en Química]. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2013.
8. Castañeda C, Ramos E, Ibáñez V. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Rev Horizonte Médico*. Perú. 2008: 8 (1).

9. Ortiz H, Sánchez F, Méndez A, Murillo P. Potencial antioxidante de hojas y corteza de *Bauhinia kalbreyeri* Harms: Contribución de sus flavonoides en esta actividad. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 2009: 33(127): 183-191.
10. Sotero V, Silva L, García D, Imán I. Evaluación de la actividad antioxidante del pulpa, cáscara y semilla del fruto del camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K.) *Rev. Soc. Quím. Perú.* 2009: 75 (3).
11. Gaitan Fernández I. Evaluación de la actividad antioxidante de cinco especies vegetales utilizadas popularmente para el tratamiento de afecciones de la memoria y los nervios. [ Tesis para optar el grado de Maestría]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2009.
12. Enciso J, Amiel J, Guija E, Fukusaki A, Reátegui O, Amiel D, Enciso N, Valdivia E, Rodríguez R, Neyra K. Actividad Antioxidante del Extracto Hidroalcohólico de Cuatro Plantas Medicinales y Estimulación de la Proliferación de Fibroblastos. *Rev Soc Quím Perú.* 2010: 76 (1). 2.
13. García Ramírez A. Evaluación *in vitro* / *in vivo* de propiedades antioxidantes de clones promisorios de papa criolla (*Solanum phureja*). [Tesis para optar al título de Magister en Ciencias Farmacéuticas]. Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 2011.
14. Sotero V, Silva L, Merino C, Maco M, Dávila E, Ramírez W, García D. Evaluación de la Actividad Antioxidante de Seis Frutales Amazónicos: Anona, Castaña, Chope, Huasaí, Huito y Uvilla. Instituto de Investigación de la Amazonía Peruana. *Folia Amazónica.* 2011: 20(1):53-58.
15. Guimet Rojas R. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación de polifenoles totales *in vitro* de las hojas de ocho morfotipos de *Bixa Orellana* L. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2012.
16. Doroteo V, Camilo C, Rojas R. Compuesto fenólicos y actividad antioxidante *in vitro* de 6 Plantas Peruanas. *Rev Soc Quím Perú.* 2013: 79(1)
17. Morales Gómez P, Fernández Ruiz V, Sánchez Mata M, Cámara Hurtado M, Valoración de la actividad antioxidante de verduras silvestres. VII Congreso Ibérico de Agroingeniería y Ciencias Hortícolas. Madrid; 2013, p. 1325 - 1330

18. Orbe Saavedra P. Tuesta Pinedo G. Evaluación de la Actividad Antioxidante y Alelopática de las Hojas de *Piper tenuistylum* C.DC. y *Piper lagenaebaccum* Trel. [Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2013.
19. Quinteros Espino N. Estudio comparativo de la actividad antibacteriana y antioxidante de los extractos etanólicos de *Croton thurifer* Kunth y *Croton collinus* Kunth. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmaceutica]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
20. Arbayza J, Ruiz S, Edmundo E, Ruidiaz D, Cosavalente K. Capacidad Antioxidante del Zumo y de los Extractos Hidroalcohólicos y Acuosa Obtenidos de *Punica granatum* y su Relación con el contenido de Polifenoles. *Rev Farmaciencia*. Perú. 2014: 2 (2).
21. Camacho Cervantes R. Evaluación de la actividad antioxidante e irritabilidad dérmica del aceite de unguahui *Oenocarpus batahua* para uso cosmético. [Tesis para optar el grado académico de Magíster en Recursos Vegetales y Terapéutico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
22. López V, Akerreta S, Cavero R, Calvo I. Actividad antioxidante de plantas empleadas en la medicina tradicional navarra. *Rev de Fitoterapia* . España. 2007: 7(1): 43-47.
23. Ciappini M, Stoppani F, Martinet R, Alvarez M. Actividad antioxidante y contenido de compuesto fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. *Rev. Cienc. Tecnol*. 2013: 15(1): 45-51
24. Novoa Cardenas A. Pinedo Mera A. Evaluación de antioxidantes a partir de las hojas, flores y tallos de la especie *Lippia dulcis* Trev. (menta dulce). [Tesis para optar el título profesional de licenciado en bromatología y nutrición humana]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2016.
25. Rebatta Rios H. Actividad antioxidante e identificación de compuestos fenólicos de las fracciones alcohólicas de la corteza de *Theobroma tibovatum*, IIAP. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2012.

26. Quispe Espinoza M. Rojas Moncada A. Actividad antioxidante del extracto alcohólico de hojas de *Verbena littoralis* Kunth (verbena) en Iquitos, Loreto, Perú. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2013.
27. Jiménez Salinas J. ImanTorres A. Actividad antioxidante y antibacteriana *in vitro* de las hojas del *Coriandrum sativum* (culantro) y *Eryngium foetidum* (sacha culantro frente a dos bacterias. [Tesis para optar el título profesional de Licenciados en Bromatología y Nutrición Humana]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2016.
28. Hernández Peves M. Actividad antioxidante y citotóxica de las fisalinas y de los flavonoides presentes en las hojas de *Physalis peruviana* L. [Tesis para optar el Grado Académico de Magíster en Recursos Vegetales y Terapéuticos]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
29. Eterthon P, Hecker k, Bonanome A. Bioactive compounds foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer 2002; 113 p. [Revista virtual]. [Recuperado el 9 de abril 2017] Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12566142/>
30. Villacorta Villacorta G. Perez Valdez A. Actividad antioxidante "*in vitro*" de las hojas y frutos de *Morinda citrifolia* Linn mediante el método de secuestro de radicales libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2011.
31. Patthamakanokporn O, Puwastien P, Nitithamyong A., Sirichakwal P. Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits 2008; 21 (3): 241-248 pp. [Revista virtual]. [Recuperado el 15 de junio 2017] Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication>
32. Pastene E. Estado actual de la búsqueda de plantas con actividad antioxidante. 2009; 8 (6), 449- 551 pp. [Revista virtual]. [Recuperado 5 de Marzo 2017] Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?>
33. Coronado M, Vega S, Gutierrez L, Vásquez M, Radilla C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Rev Chil Nutr* 2015; 42 (2).

34. Zamora, J. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Rev Chil Nutr.* 2007; 34 (1): 17-26.
35. Núñez, A. Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. *Rev Cubana Salud Pública.* 2011; 37 (1): 644-648.
36. Armenteros, M.; Ventanas, D.; Morcuende, M., Estévez, J. Empleo de antioxidantes naturales en productos cárnicos. *Eurocarne.* 2012; 63 – 73 pp. [Revista virtual]. [Recuperado el 24 de Marzo 2017] Disponible en: [http://eurocarne.com/daal/a1/boletin\\_imagenes/.pdf](http://eurocarne.com/daal/a1/boletin_imagenes/.pdf)
37. Pokorny J, Yanishieva N, Gordon M . Antioxidantes de los alimentos. 1a ed. España: Editorial Acribia, S.A. 2001 pp 380.
38. Sánchez H. Evaluación de la capacidad antioxidante de compuestos fenólicos y actividad antimutágena de los extractos de camu camu (*Myrciaria dubia*) y yacón (*Smollanthus sonchifolius*). [Tesis para optar el título de Ingeniera en Industrias Alimentarias]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2010.
39. Vásquez R, Rudas A, Taylor Ch. Flórmula de las Reservas Biológicas de Iquitos, Perú, Allpahuayo-Mishana, Explornapo Camp, Explorama Lodge. Monographs in Syst. Bot. Miss. Bot. Gard. 63. St. Louis, MO. AMAZ-FCB-UNAP. Iquitos-Perú. 1997; 193, 194, 536 pp. [Revista virtual]. [Recuperado 10 de Junio 2017] Disponible en: [https://www.si.edu/object/siris\\_sil\\_923300](https://www.si.edu/object/siris_sil_923300)
40. Junes R. Evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* y efecto regenerador *in vivo* de una crema cosmética con extracto liofilizado de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon). [Tesis para optar el grado académico de magíster en Ciencias Farmacéuticas con mención en Ciencia y tecnología Cosmética]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
41. Reátegui P. Ramirez J. Actividad antioxidante *in vitro*, determinación de polifenoles totales de raíz de *Physalis angulata* L. (bolsa mullaca). [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2014.

42. Bardales Cabanillas B. Actividad antioxidante y metabolitos secundarios de tres especies vegetales procedentes de la amazonía peruana como una alternativa de aprovechamiento sostenible. [Tesis para optar el Grado Académico de Maestro en Ciencias y Tecnologías Ambientales con Mención en Auditoria y Legislación Ambiental en la Industria]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2018.
43. Valls J, Lampreave M, Nadal M, Arola L. Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. España. 2013; 1-6 pp. [Revista virtual]. [Recuperado el 15 de Junio 2017] Disponible en: <https://www.researchgate.net/profile/>
44. Shamsa F, Monsef H, Ghamooshi E, Verdian M. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some iranian medicinal plantas. 2008; 32 (1), 17 -20 pp. [Revista virtual]. [Recuperado 23 de Junio 2017] Disponible en: <http://www.thaiscience.info/journals>.
45. Fuentes Paredes FM, Mendoza Yanavilca RA, Rosales Fernández AL. Guia de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio, Instituto Nacional de Salud. Lima, 2008. 52 p. [Revista virtual]. [Recuperado 18 de Julio 2020] Disponible en: <https://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf>
46. Córdova G, Núñez A. Determinación del perfil de ácidos grasos de un aceite extraído de la semilla *Vitis vinífera* (uva negra criolla). [Tesis para optar el título de Ingeniera en Industria Alimentarias]. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo – Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias; 2015.

**ANEXO**



## ANEXO 1

### LUGAR DE COLECTA DE LAS ESPECIES VEGETALES



**ANEXO 2**  
**COLECTA DE LAS ESPECIES VEGETALES**



## ANEXO 3 CERTIFICACIÓN ESPECIES



**UNAP**

Herbarium Amazonense – AMAZ  
Centro de Investigación  
de Recursos Naturales

### CONSTANCIA N° 34

EL COORDINADOR DEL HERBARIUM AMAZONENSE, AMAZ-CIRNA, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

HACE CONSTAR:

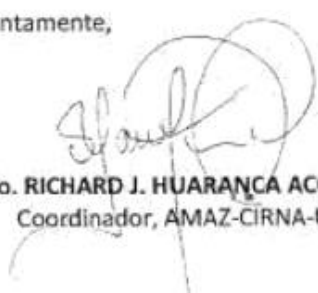
Que, las muestras botánicas presentadas por: **FUNDESAB-PERÚ**; para el Proyecto **PIBA-2-P-235-14**; cuyo eje temático es: **"IDENTIFICACIÓN DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS CAUSANTES DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ALELOPÁTICA DE SIES ESPECIES NATIVAS DE LA REGIÓN LORETO "**. Las cuales fueron verificados e identificados en este Herbarium Amazonense - AMAZ, CIRNA-UNAP, treinta y dos especies vegetales que a continuación se indican:

N°	ORDEN	FAMILIA	ESPECIES
1	Malpighiales	Euphorbiaceae	<i>Sapium glandulosum</i> (L.) Morong
2	Magnoliales	Myristicaceae	<i>Viola calophylla</i> (Spruce) Warb.
3	Magnoliales	Annonaceae	<i>Duguetia spixiana</i> Mart.
4	Magnoliales	Myristicaceae	<i>Viola albidiflora</i> Ducke
5	Magnoliales	Myristicaceae	<i>Otoba parvifolia</i> (Markgr.) A.H. Gentry
6	Magnoliales	Annonaceae	<i>Unonopsis spectabilis</i> Diels
7	Rosales	Moraceae	<i>Ficus trigona</i> L. f.
8	Fabales	Fabaceae	<i>Hydrochorea corymbosa</i> (Rich.) Barneby & J.W. Grimes
9	Rosales	Moraceae	<i>Perebea guianensis</i> Aubl.
10	Gentianales	Apocynaceae	<i>Couma macrocarpa</i> Barb. Rodr.
11	Magnoliales	Annonaceae	<i>Xylopia benthamii</i> R.E. Fr.
12	Malpighiales	Caryocaraceae	<i>Caryocar glabrum</i> (Aubl.) Pers.
13	Magnoliales	Annonaceae	<i>Guatteria scytophylla</i> Diels
14	Sapindales	Anacardiaceae	<i>Tapirira guianensis</i> Aubl.

Se expide la presente constancia al interesado para los fines que se estime conveniente.

Iquitos, 06 de Agosto del 2015

Atentamente,

  
Blgo. RICHARD J. HUARAÑCA ACOSTUPA M.S.  
Coordinador, AMAZ-CIRNA-UNAP



**ANEXO 4**  
**SELECCIÓN Y LIMPIEZA**



**ANEXO 5**  
**SECADO, PULVERISADO Y ENVASADO DE LAS MUESTRAS**



**ANEXO 6**  
**PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES EN METANOL**



**ANEXO 7**  
**LECTURA EN EL EQUIPO ESPECTROFOTÓMETRO UV/VIS**



## ANEXO 8

### CERTIFICADO SANITARIO *Mus musculus* "RATON ALBINO"

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO		
<b>CERTIFICADO SANITARIO N°</b> <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">257-2016</span>		
Producto : Ratón albino	Lote N° : M - 38 - 2016	
Especie : <i>Mus musculus</i>	Cantidad : 50	
Cepa : Baib/c/CNPB	Edad : 30 a 34 días	
Peso : 20 - 24 gr.	Sexo : 25 Machos 25 Hembras	
R.U.C. : 20131257750	GR: 033353	Destino : Seguro Social de Salud ESSALUD-IQUITOS
Fecha : 22-09-2016		
El Médico Veterinario, que suscribe, <b>Arturo Rosales Fernández</b> , Coordinador de Bioterio <b>CERTIFICA</b> , que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *		
*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.		
Chorrillos, 22 de Setiembre del 2016 (Fecha de emisión del certificado)		
<b>NOTA :</b> El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.		 M.V. Arturo Rosales Fernández. C.M.V.P. 1586

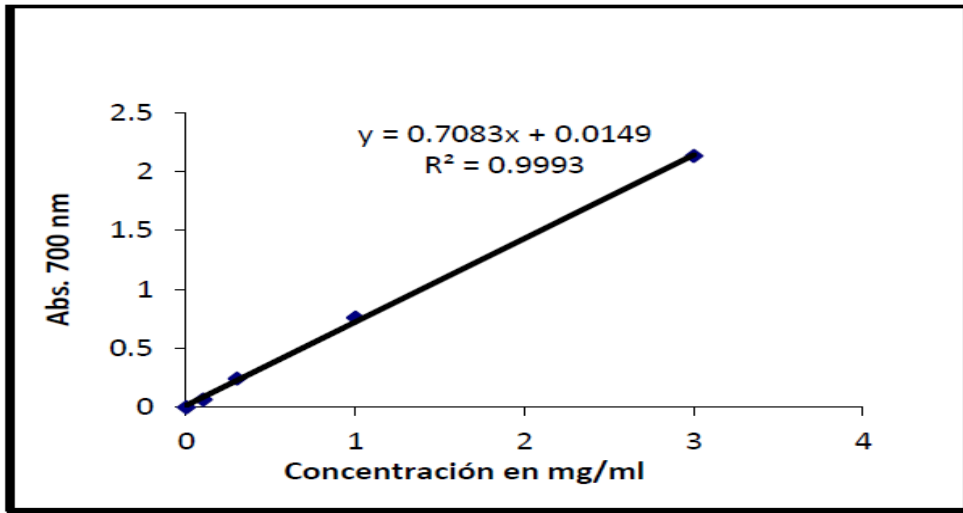
**ANEXO 9**

***Mus musculus* – CEPA: BALB/C/CNPB. “ratón albino”**



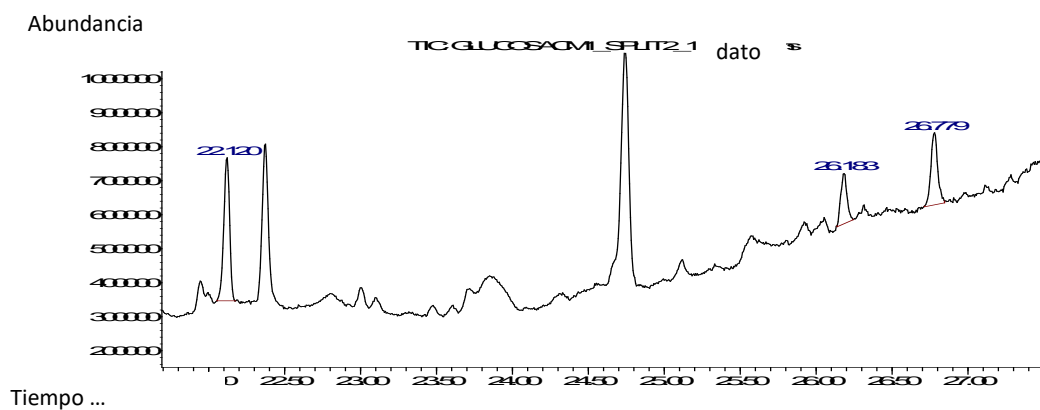


ANEXO 10  
CURVA DE CALIBRACIÓN



# ANEXO 11

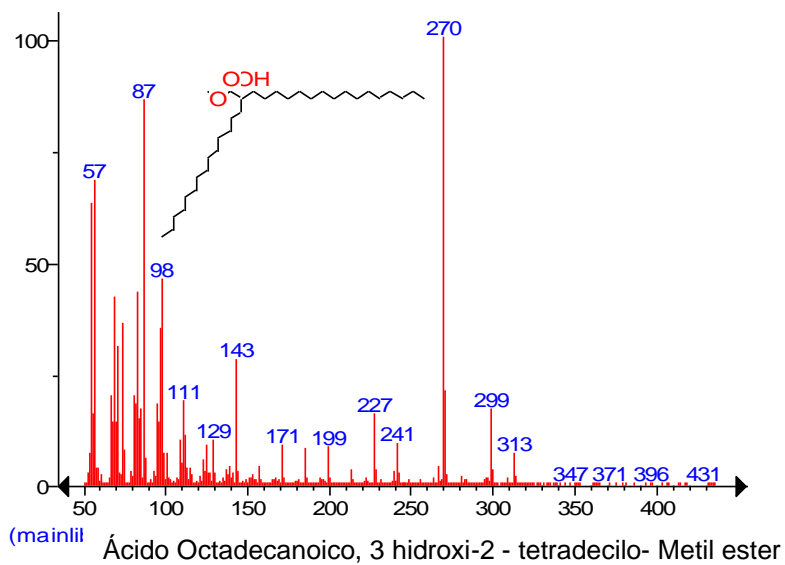
## MUESTRA CEREBRO: GLUCOSA



peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	22.120	3403	3414	3423	M	423597	11301575	100.00%	50.938%
2	26.183	4116	4124	4134	M2	147910	4262253	37.71%	19.211%
3	26.779	4217	4228	4239	M2	212403	6623228	58.60%	29.852%

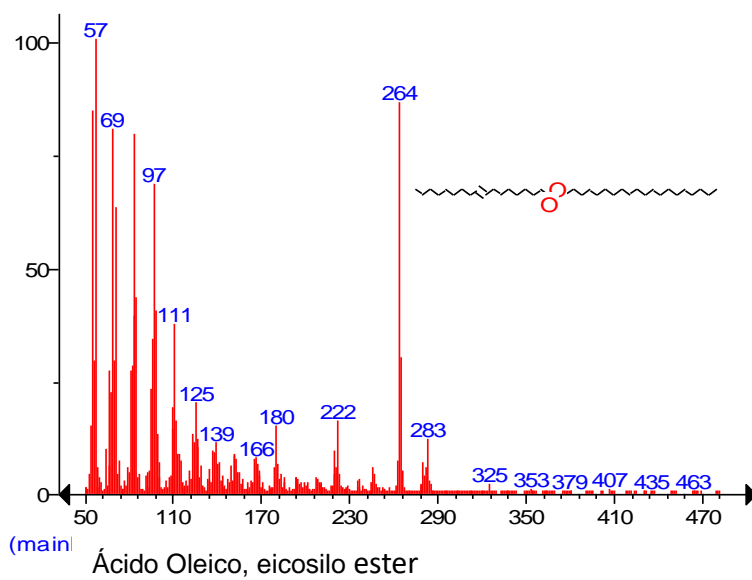
### Pico 1

Con 77.4% de relación



### Pico 2

Con 80.3 % de relación

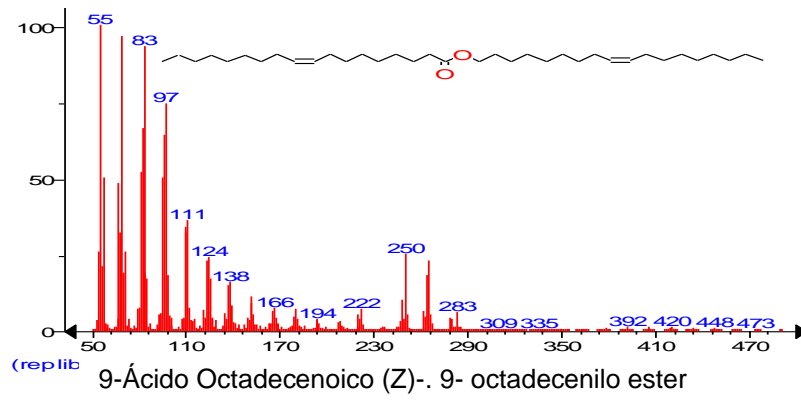


### Sinónimos

1.9-Ácido Octadecenoico (Z). eicosilo ester

2-Icosilo (9E)-9-octadecenoato

Con 76.8 % de relación

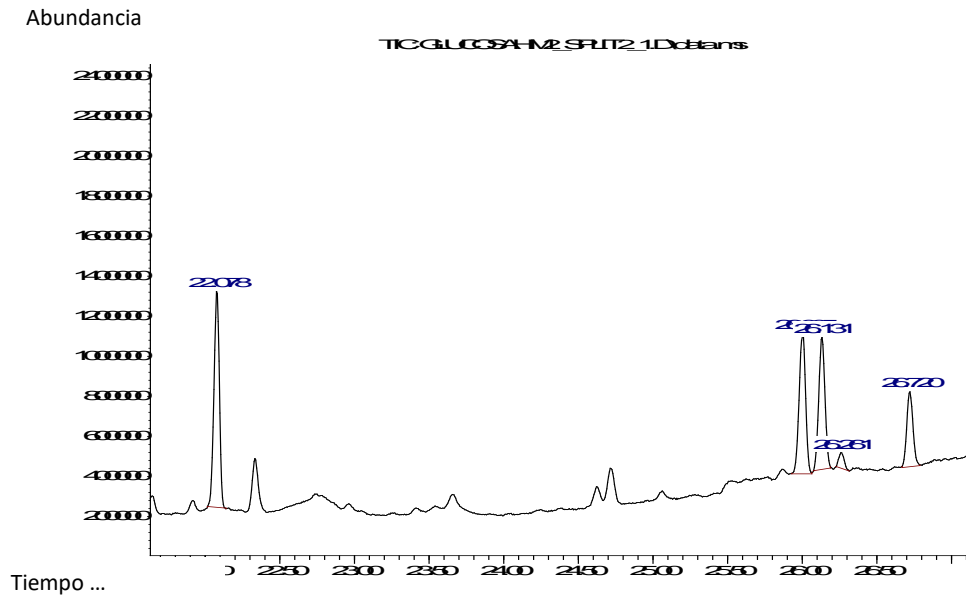


Sinónimos

1.Ácido Oleico, (Z)- 9- octadecenilo ester

## ANEXO 12

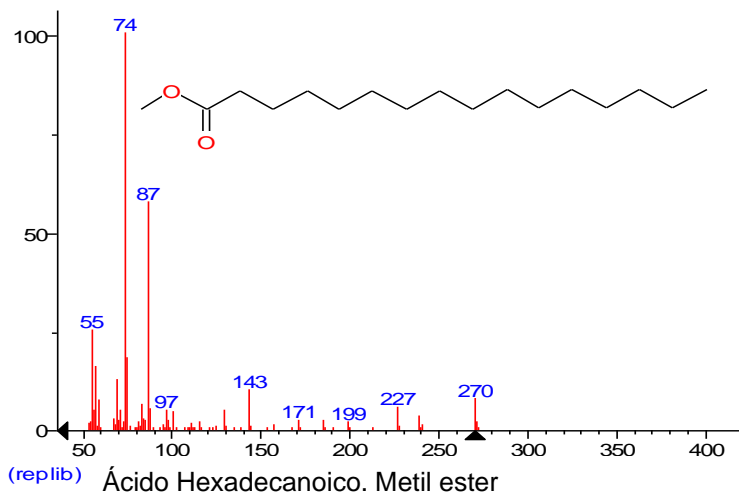
### MUESTRA DE HÍGADO: GLUCOSA



peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	22.078	3395	3406	3417	M	1091590	27315003	100.00%	33.958%
2	26.005	4080	4093	4103	M	709471	21247000	77.79%	26.414%
3	26.131	4105	4115	4125	M	663048	19127728	70.03%	23.780%
4	26.261	4131	4137	4147	M2	78773	1947123	7.13%	2.421%
5	26.720	4209	4218	4229	M	376802	10800834	39.54%	13.428%

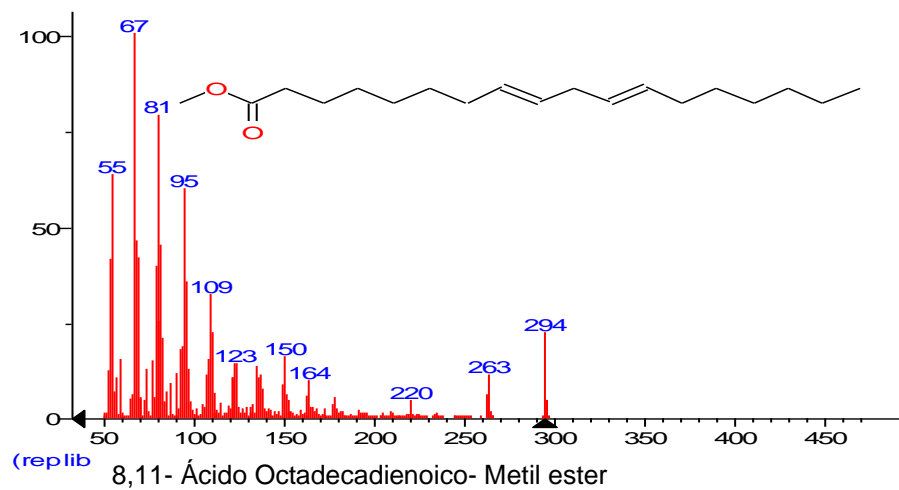
Pico 1

Con 93.9 % de relación



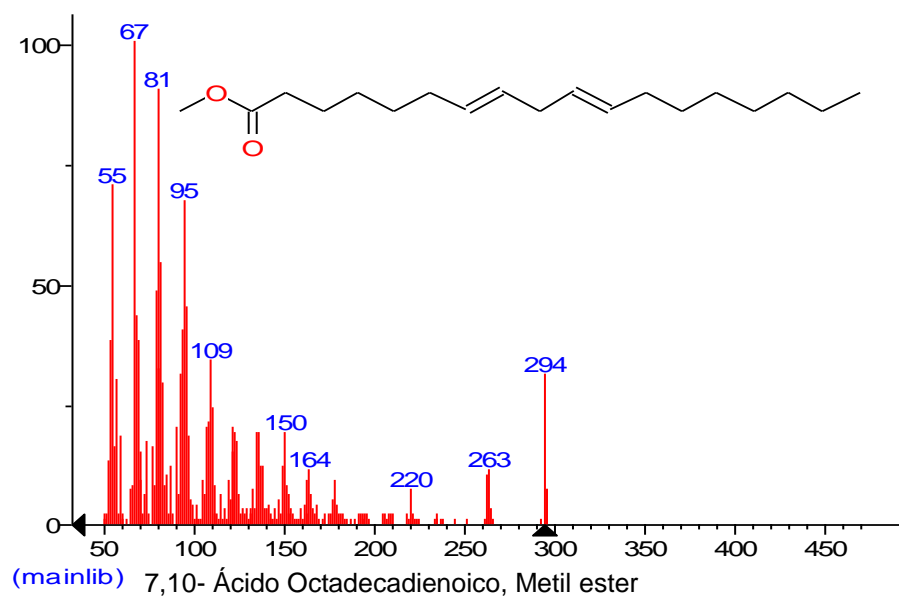
Pico 2

Con 88.6 % de relación



Sinónimos

1.Metil (8E,11E)-8,11- Octadecadienoato

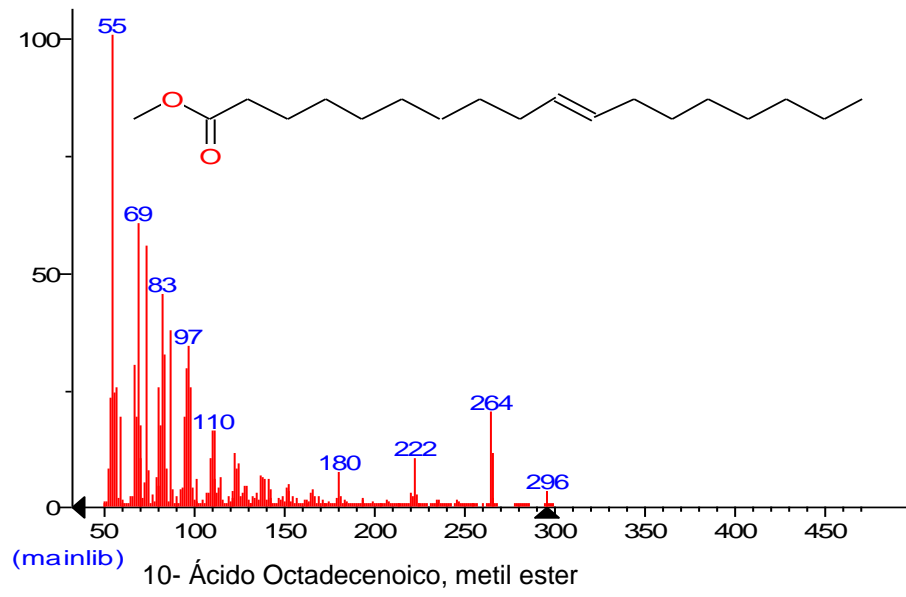


Sinónimos

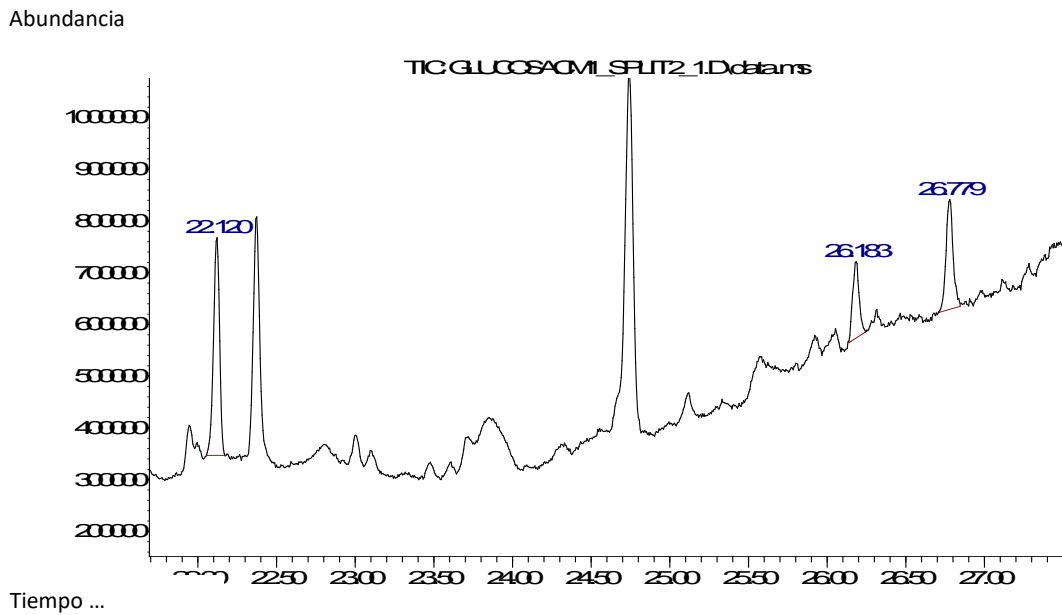
1.Metil (7E,10E)-7,10- octadecadienato

Pico 3

Con 88.7 % de relación



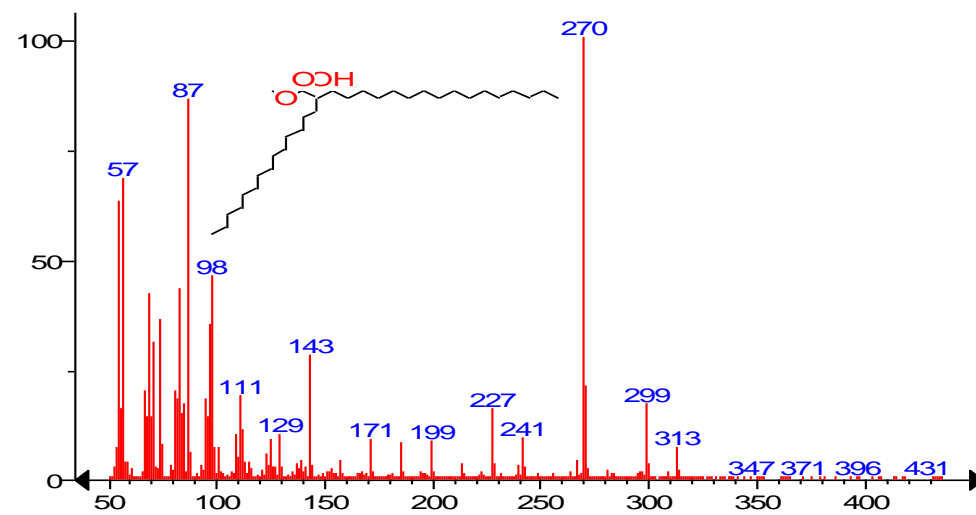
**ANEXO 13**  
**MUESTRA DE PLASMA: GLUCOSA**



peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	22.120	3403	3414	3423	M	423597	11301575	100.00%	50.938%
2	26.183	4116	4124	4134	M2	147910	4262253	37.71%	19.211%
3	26.779	4217	4228	4239	M2	212403	6623228	58.60%	29.852%

Pico 1

Con 77.4 % de relación



(mainlib) **Ácido Octadecanoico, 3-hidroxi-2-tetradecilo-metil ester metilo ester**

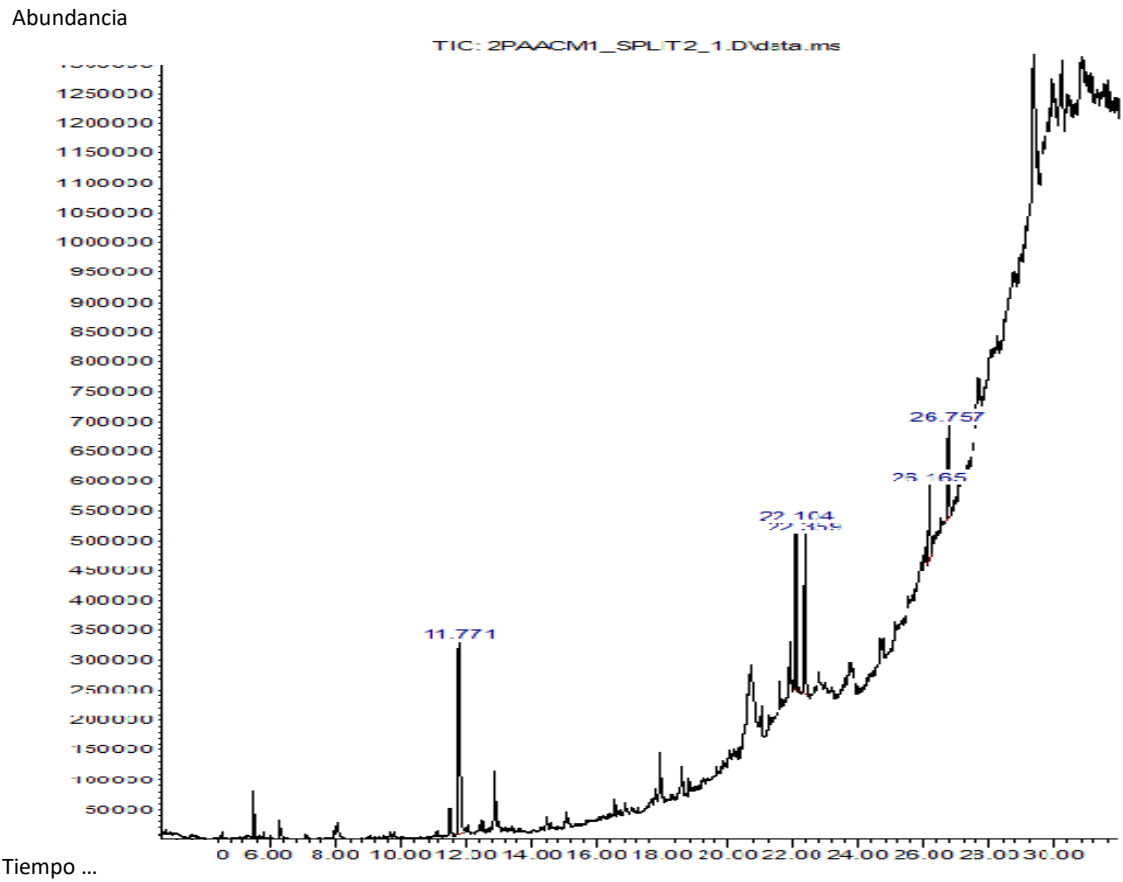
Sinónimos

1. Metil 3- hidroxi-2-tetradecilo octadecanoato Octadecanoico, 3-hidroxi-



# ANEXO 14

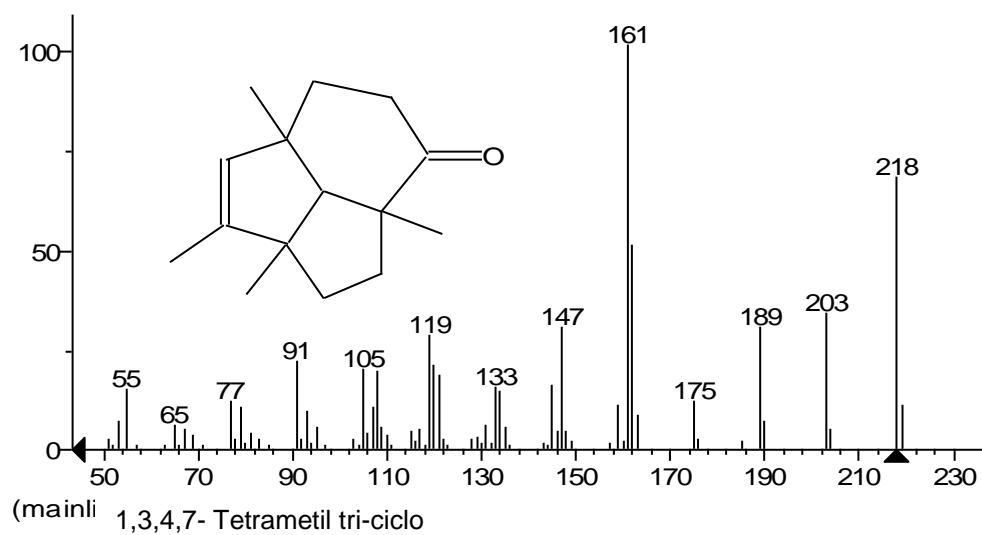
## MUESTRA DE CEREBRO: Extracto de *Virola calophylla*



peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	11.771	1591	1605	1643	M	320394	13712446	100.00%	36.829%
2	22.104	3401	3411	3425	M	277540	6854476	49.99%	18.410%
3	22.359	3445	3455	3471	M	269671	7651754	55.80%	20.551%
4	26.165	4110	4121	4132	M3	124935	4123282	30.07%	11.074%
5	26.757	4212	4224	4240	M2	154239	4890577	35.67%	13.135%

Pico 1:

Con 80.3% de relación

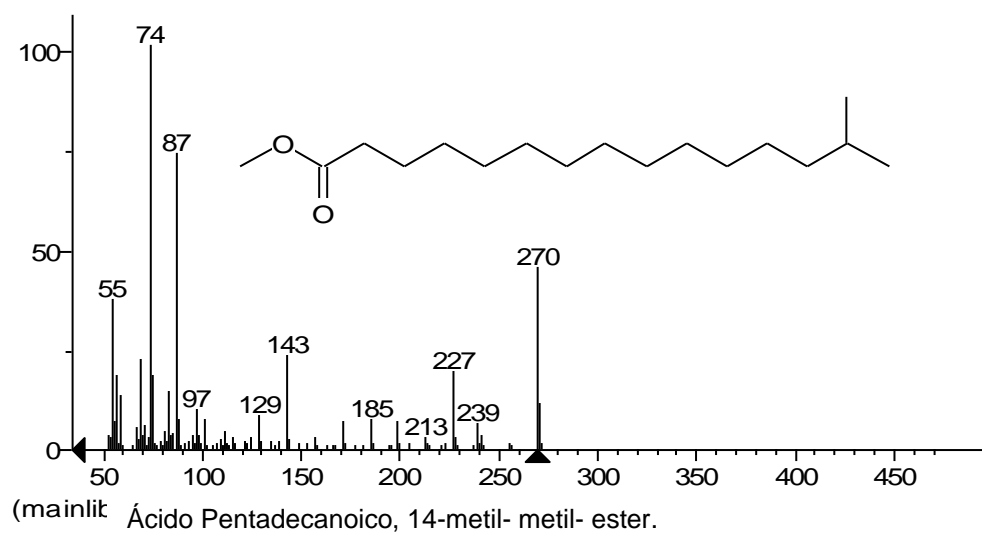


Sinónimos:

2,2a,4a,7a-Tetrametil-2a,3,4,4a,6,7,7a,7b-octahidro-5H-cicloclopentano

Pico 2

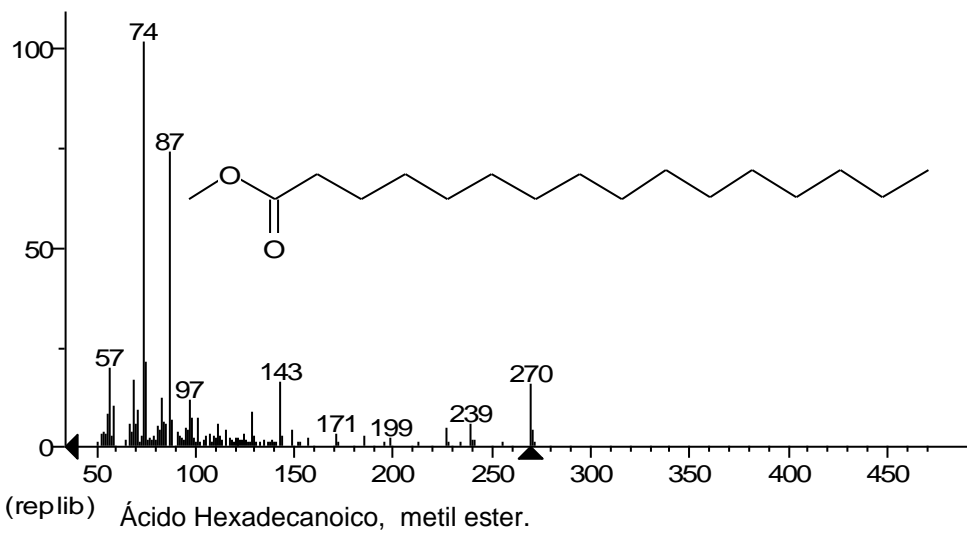
Con 88.6% de relación



Sinónimos:

Metil- 14-metilpentadecanoato #

Con 86.2% de relación

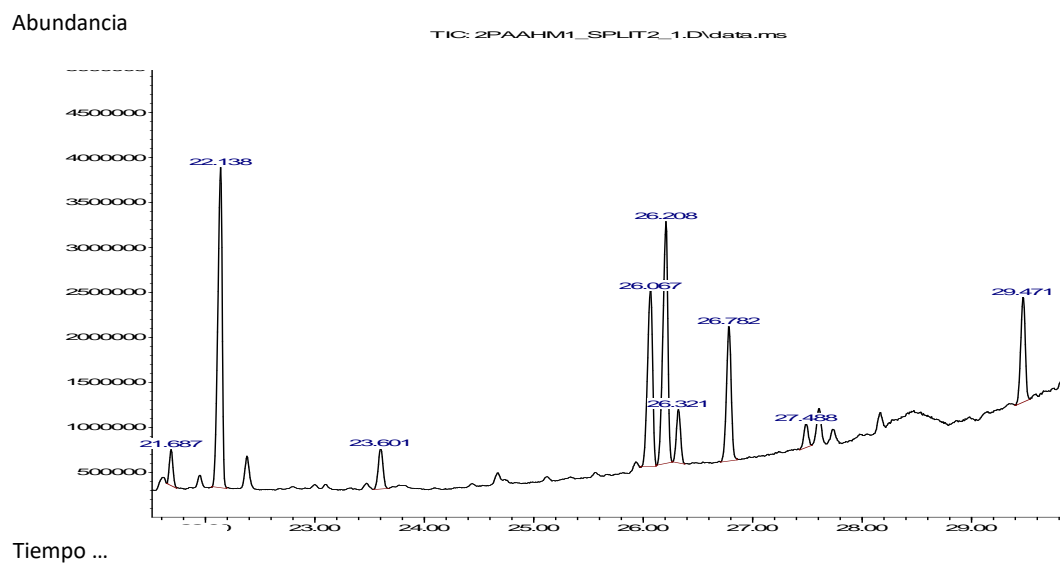


Sinónimos:

Ácido Palmítico, metil ester  
n-Ácido Hexadecanoico - metil ester

## ANEXO 15

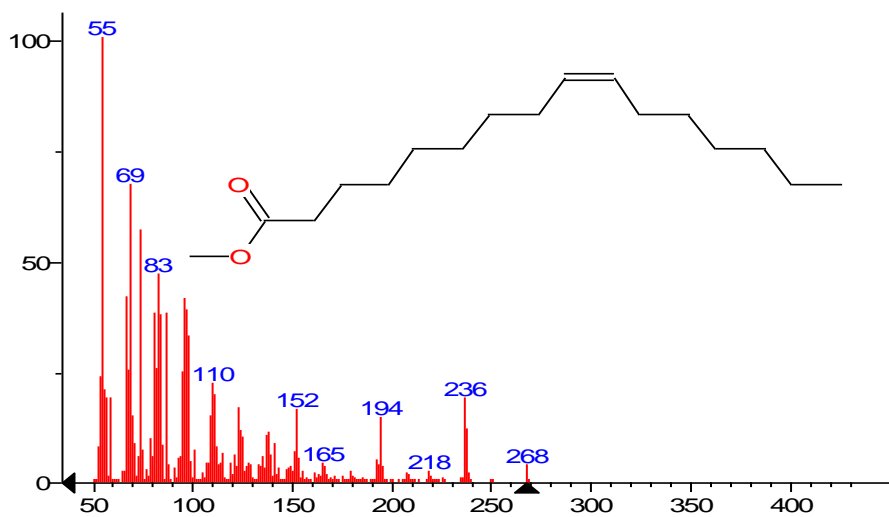
### MUESTRA DE HÍGADO: Extracto de *Virola calophylla*



peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	21.687	3331	3338	3347	M	401579	9080020	9.09%	2.427%
2	22.138	3403	3417	3426	M2	3561793	99864019	100.00%	26.698%
3	23.601	3661	3672	3685	M	450343	13709113	13.73%	3.665%
4	26.067	4087	4104	4112	M	1970778	64095882	64.18%	17.136%
5	26.208	4113	4128	4138	M	2689898	84684100	84.80%	22.640%
6	26.321	4139	4148	4158	M	595094	15898383	15.92%	4.250%
7	26.782	4216	4228	4242	M	1514501	45216375	45.28%	12.088%
8	27.488	4342	4352	4361	M3	265247	7593707	7.60%	2.030%
9	29.471	4686	4698	4709	M	1177372	33910913	33.96%	9.066%

Pico 1

Con 87.3 % de relación

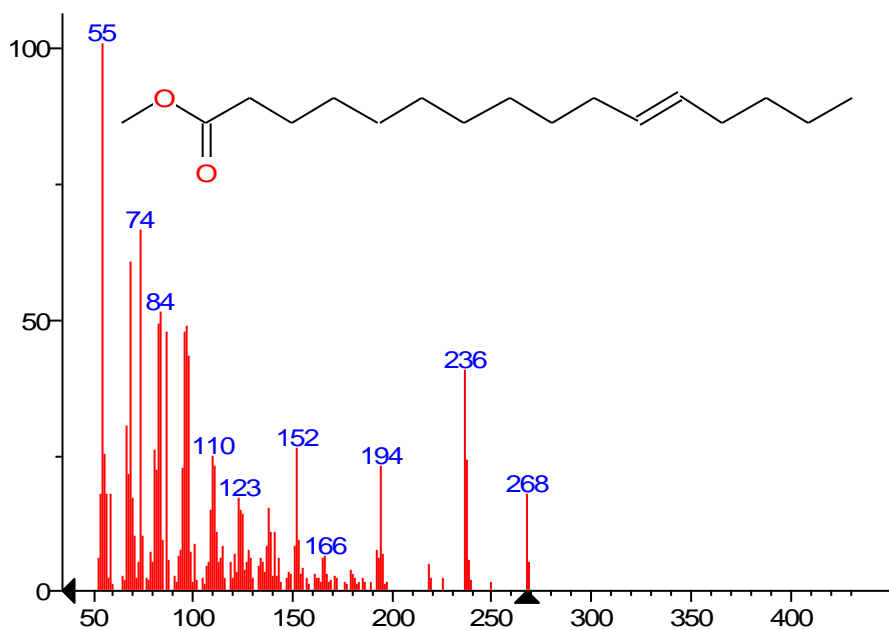


(mainlib) 9 -Ácido Hexadecanoico, metil ester. (Z)

Sinónimos

1. Metil palmitoleato
2. Metil palmitoleinato
3. Ácido Palmitoleico, metil ester

Con 98.1 % de relación

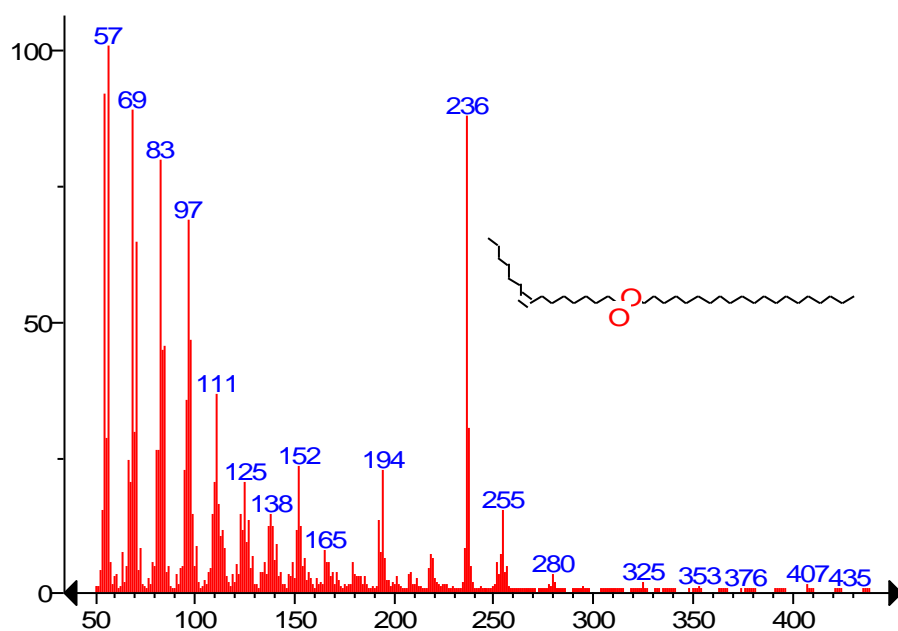


(mainlib) 11 -Ácido Hexadecenoico, metil ester.

Sinónimos

1. Metil (11E)-11-hexadecenoato #

Con 79.9 % de relación



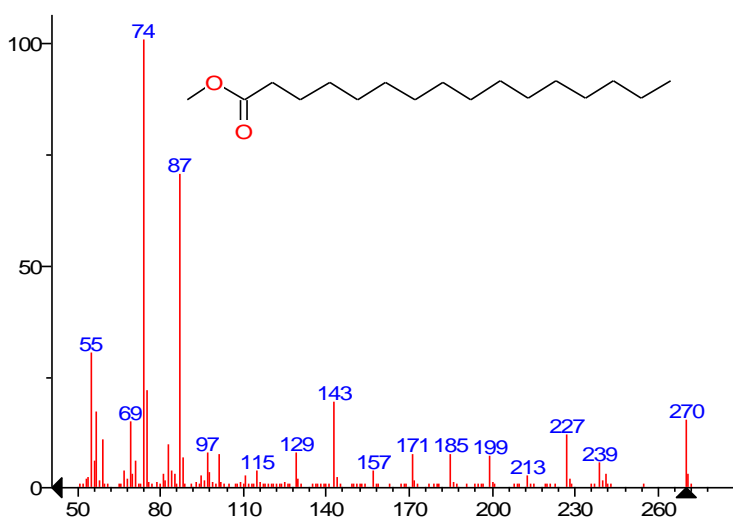
(mainlib) 9-Ácido Hexadecenoico, eicosil ester, (Z)

Sinónimos

1.Icosil (9Z)-9-hexadecenoato #

Pico 2

Con 92.7 % de relación



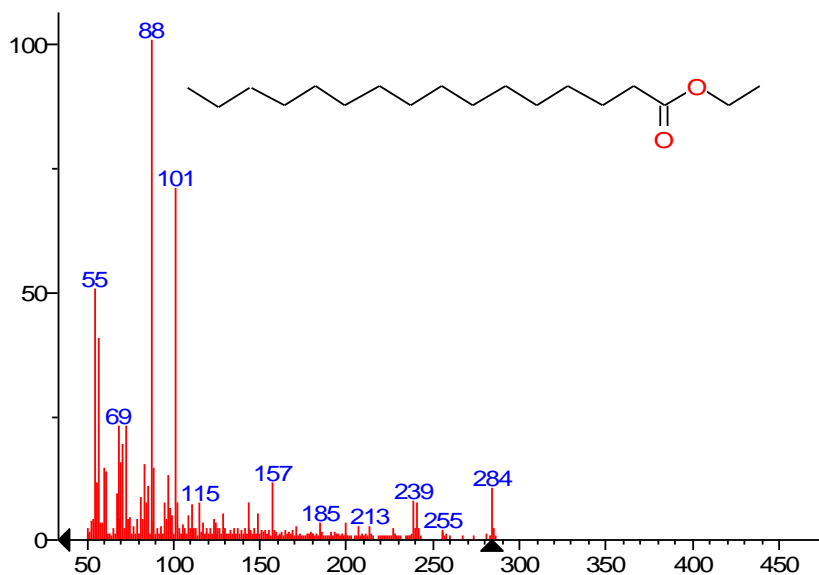
(mainlib) Ácido Hexadecanoico, metil ester.

Sinónimos

1.Ácido Palmítico, metil ester  
2.n- Ácido Hexadecanoico metil ester  
3.Metoleno 2216

Pico 3

Con 87.6 % de relación



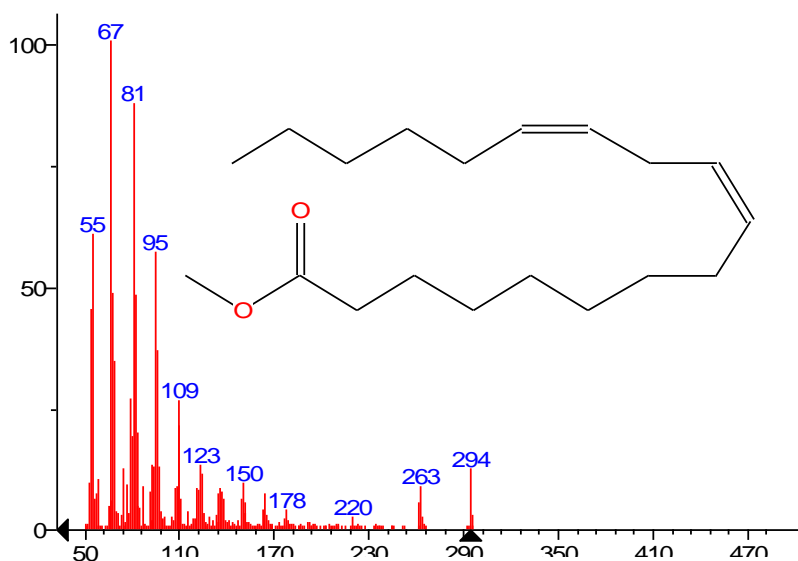
(replib) Ácido Hexadecanoico, etil ester.

Sinónimos

1. Ácido Palmítico, etil ester
2. Etil hexadecanoato
3. Etil palmitato

Pico 4

Con 93.9 % de relación SI

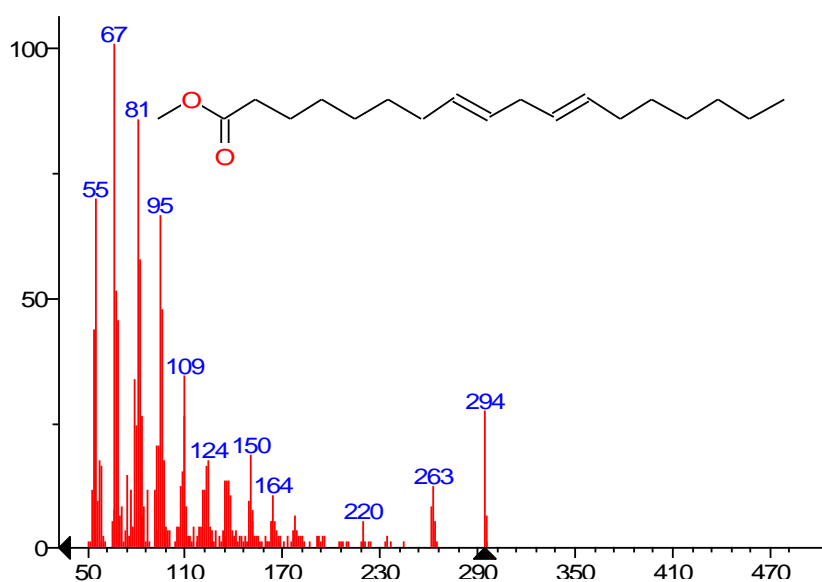


(mainlib) 9,12- Ácido Octadecadienoico (Z,Z)-,metil ester.

Sinónimos

1. Ácido Linoleico, metil ester
2. Metil cis,cis-9,12-octadecadienoato
3. Metil linoleato

Con 92.3% de relación SI



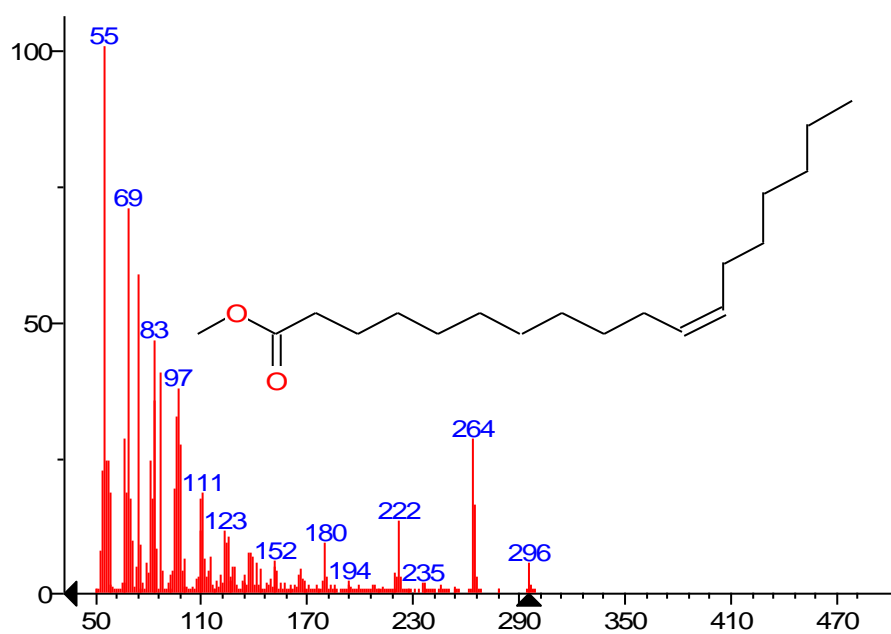
(mainlib) 8, 11 -Ácido Octadecadienoico, metil ester.

Sinónimos

1.Metil (8E,11E)-8,11-octadecadienoato #

Pico 5

Con 92.5 % de relación



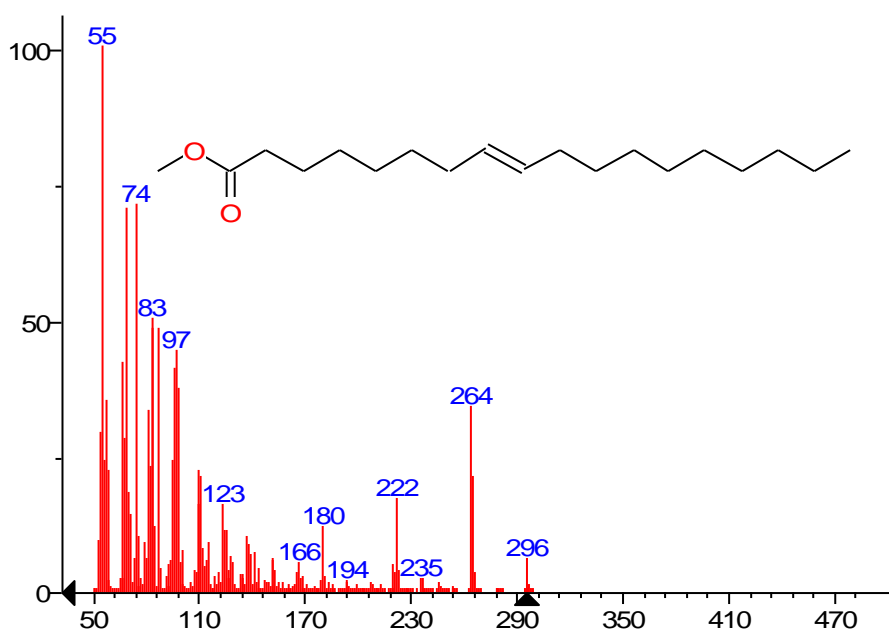
(mainlib) 11 -Ácido Octadecenoico, metil ester, (Z)

sinónimos

1.cis-11-Ácido Octadecenoico metil ester



Con 92% de relación



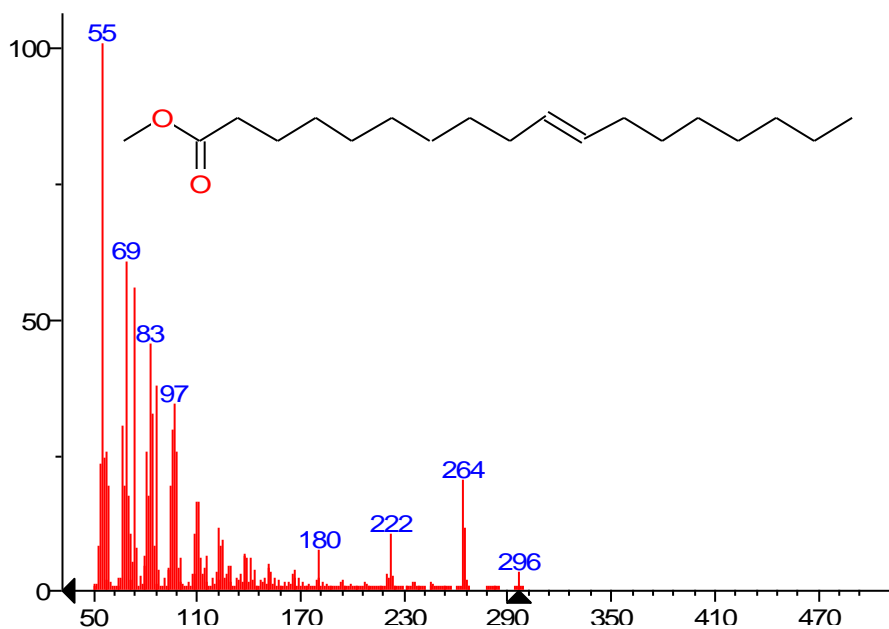
(mainlib) 8-Ácido Octadecenoico, metil ester.

Sinónimos

1.Metil (8E)-8-octadecenoato #

Pico 6

Con 87 % de relación

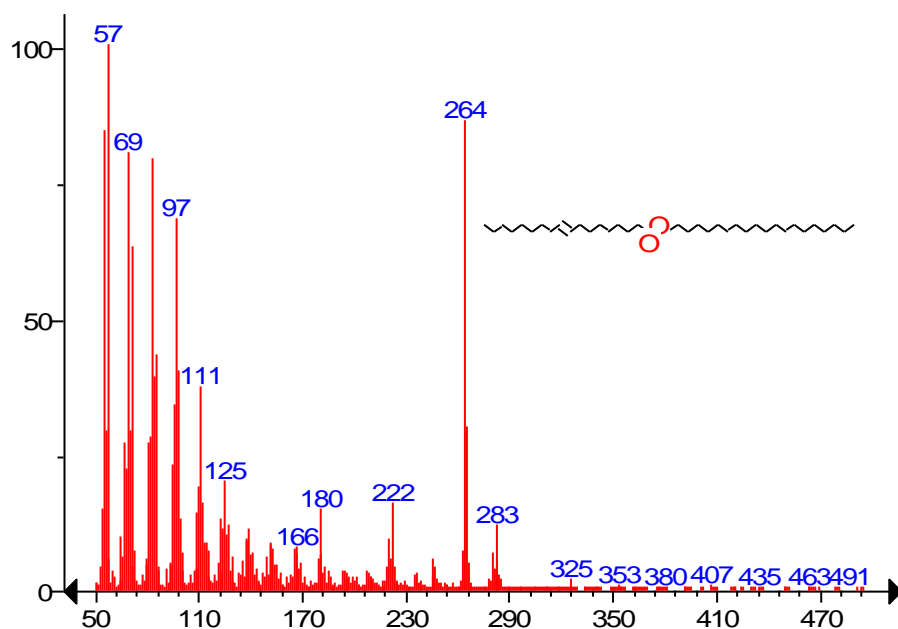


(mainlib) 10 -Ácido Octadecenoico, metil ester.

Sinónimos

1.Metil (10E)-10-octadecenoato #

Con 82.2 % de relación SI



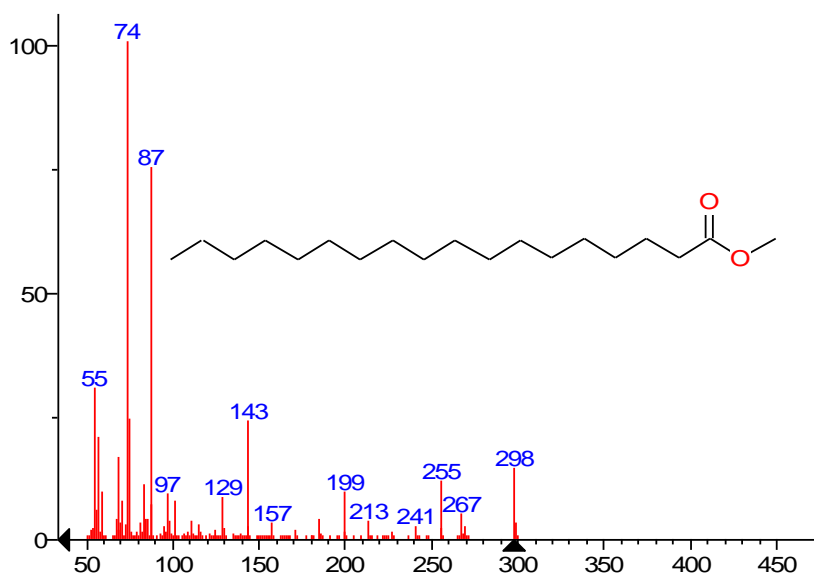
(mainlib) Ácido Oleíco, eicosil ester.

Sinónimos

- 1.9- Ácido Octadecenoico (Z)-, eicosil ester
- 2.Icosil (9E)-9-octadecenoato #

Pico 7

Con 89.4 % de relación

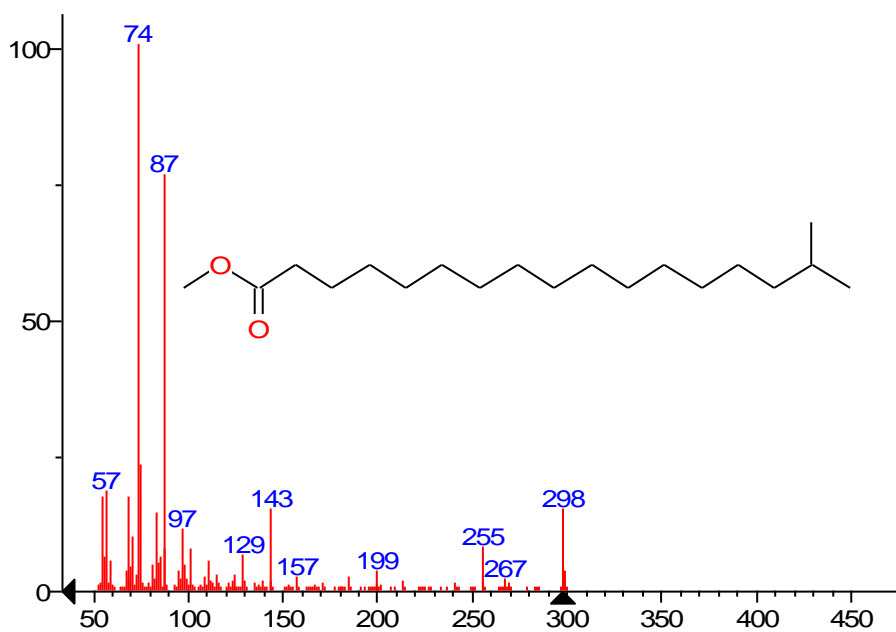


(replib) Ácido Octadecanoico, metil ester.

Sinónimos

- 1.Metil n-octadecanoato
- 2.Metil octadecanoato

Con 89.3% de relación



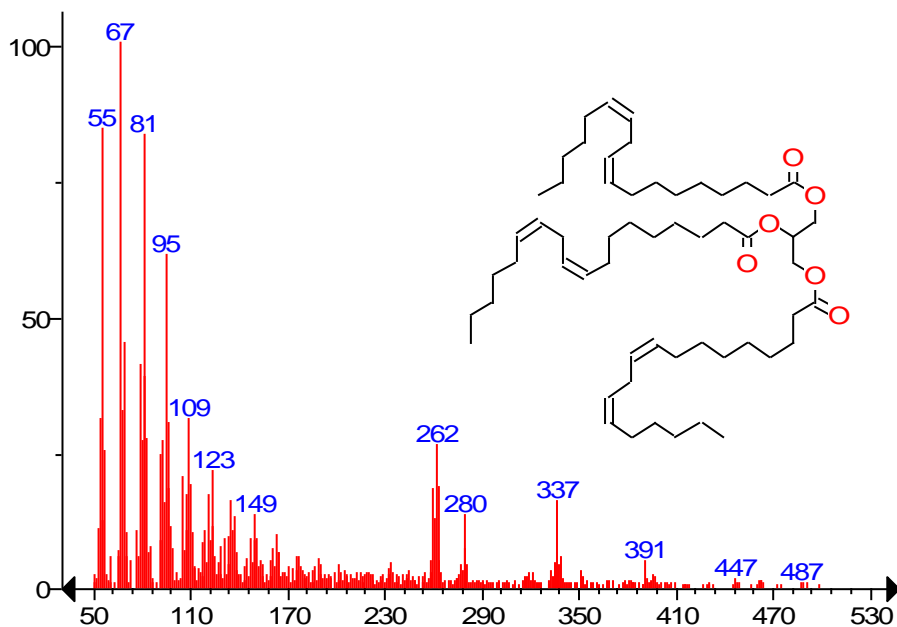
(mainlib) Ácido Heptadecanoico, 16-metil- metil ester.

Sinónimos

- 1.Metil isostearato
- 2.Metil 16-metil heptadecanoato

Pico 8

Con 80.3 % de relación

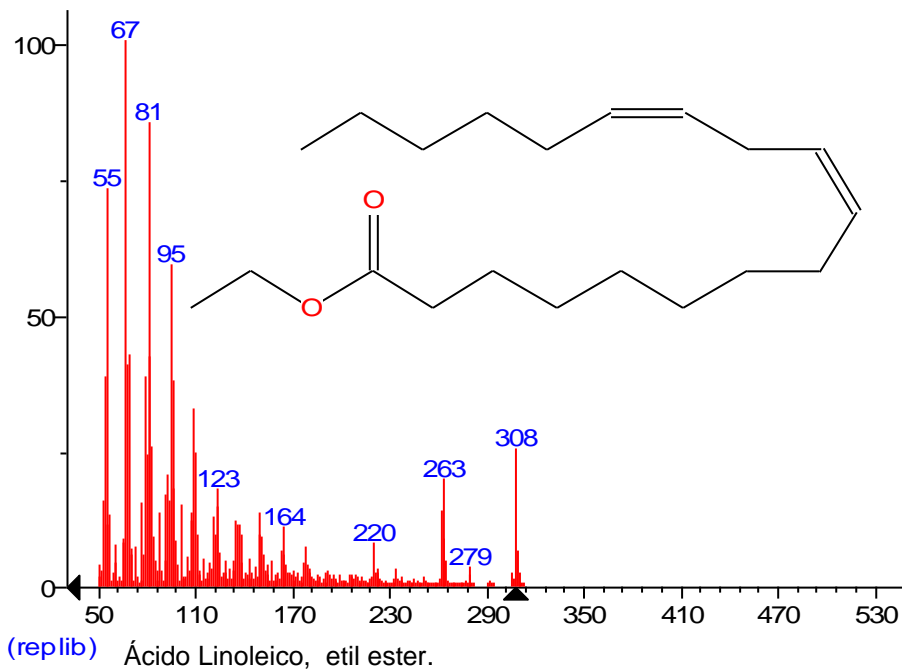


(mainlib) Trilinoleino

Sinónimos

- 1.9,12-Ácido Octadecadienoico (Z,Z)-, 1,2,3-propanetil ester

Con 81.4 % de relación

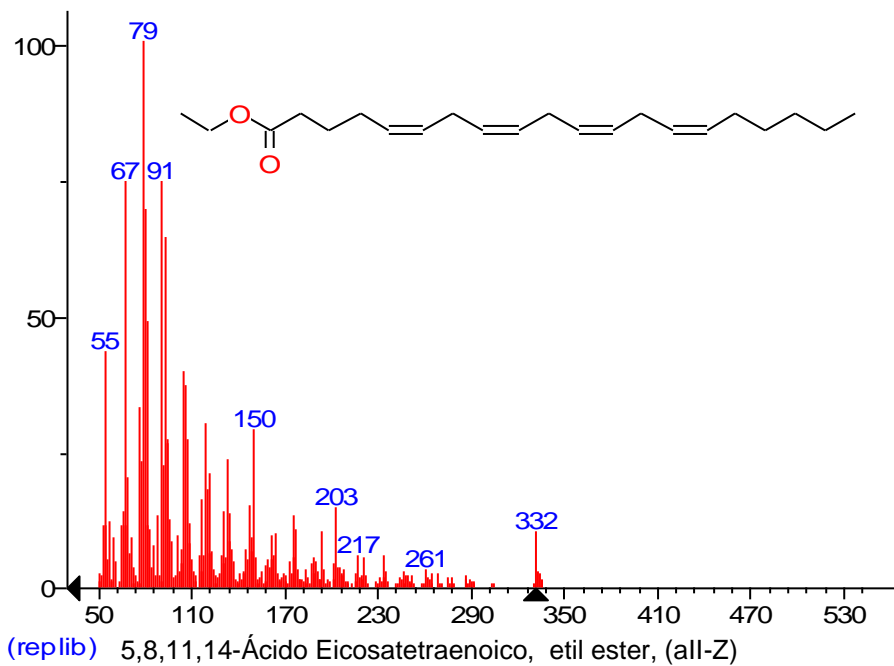


**Sinónimos**

1. Etil linoleato
2. 9,12-+Acido Octadecadienoico
3. Etil cis,cis-9,12-octadecadienoato

**Pico 9**

Con 85.9 % de relación SI

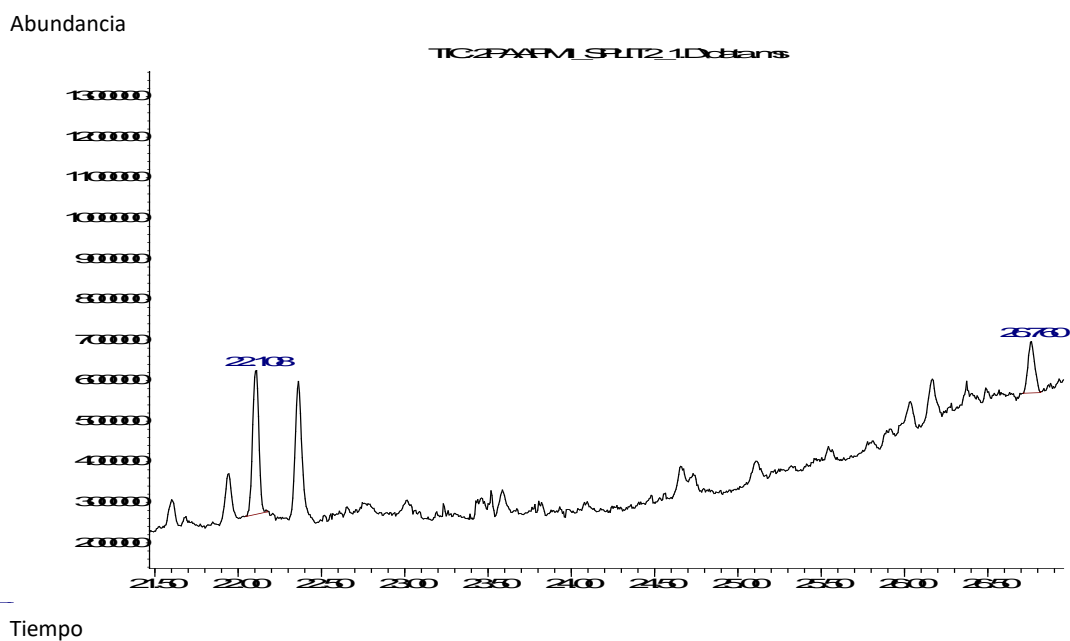


**Sinónimos**

1. Ácido Araquidónico, etil ester
2. Etil araquidonato
3. Etil (5Z,8Z,11Z,14Z)-5,8,11,14-icosatetraenoato #

## ANEXO 16

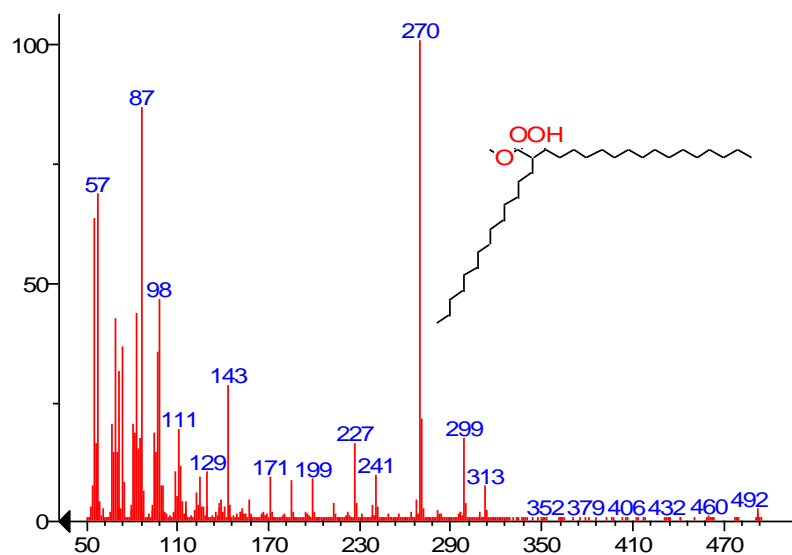
### MUESTRA DE PLASMA: Extracto de *Virola calophylla*



peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	22.108	3401	3412	3423	M	360242	9347904	100.00%	72.315%
2	26.760	4217	4225	4235	M2	128045	3578785	38.28%	27.685%

Pico 1

Con 77.8% de relación



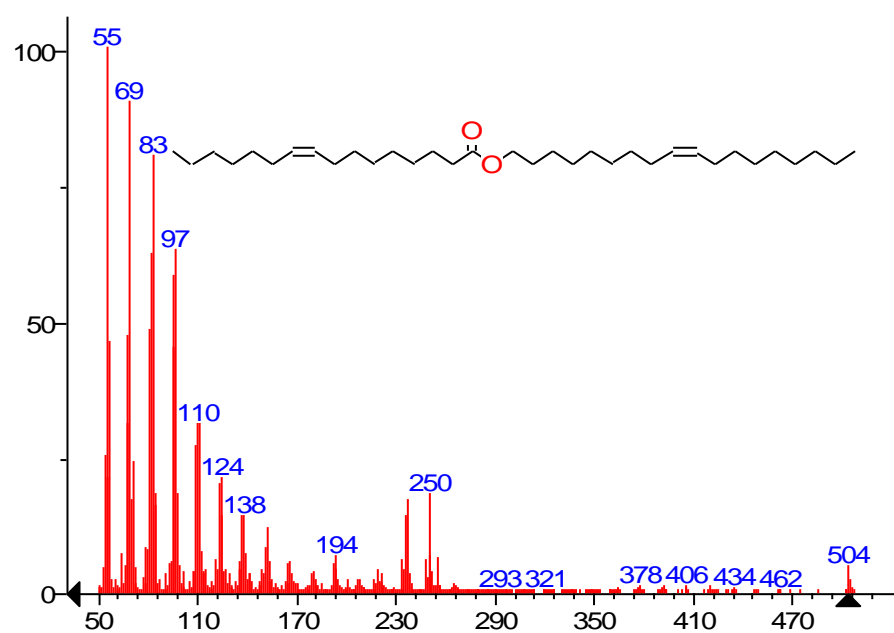
(mainlib) Ácido Octadecanoico, 3- hidroxí -2- tetradecil, metil ester

Sinónimos

1.Metil 3-hidroxí-2-tetradecilóctadecanoato #

Pico 2

Con 75.9 % de relación SI



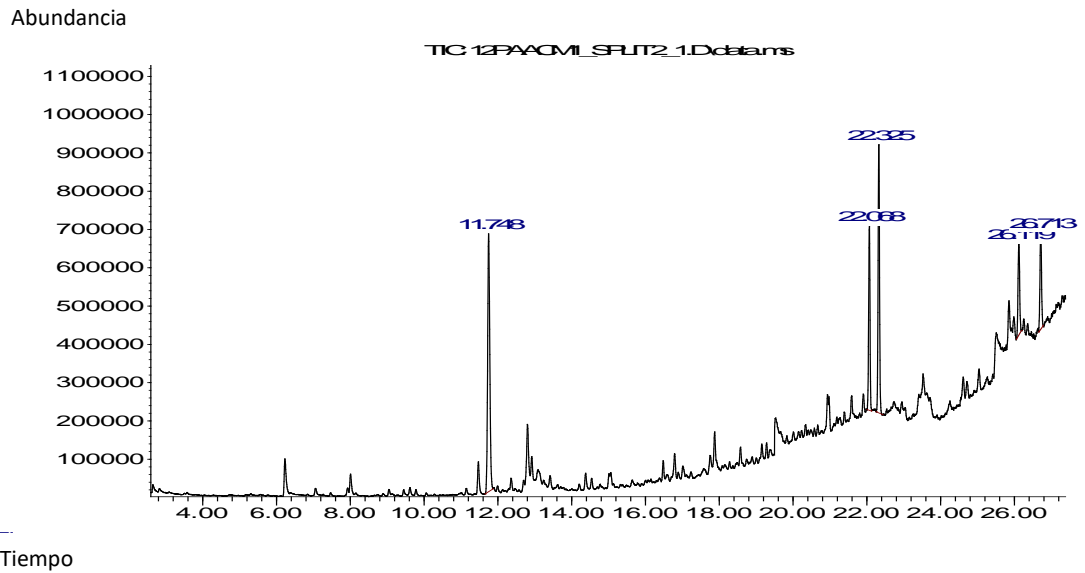
(mainlib) 9-Ácido Hexadecenoico, 9- octadecenil ester

sinónimos

1.(9Z)-9-Octadecenil (9Z)-9-hexadecenoato #

## ANEXO 17

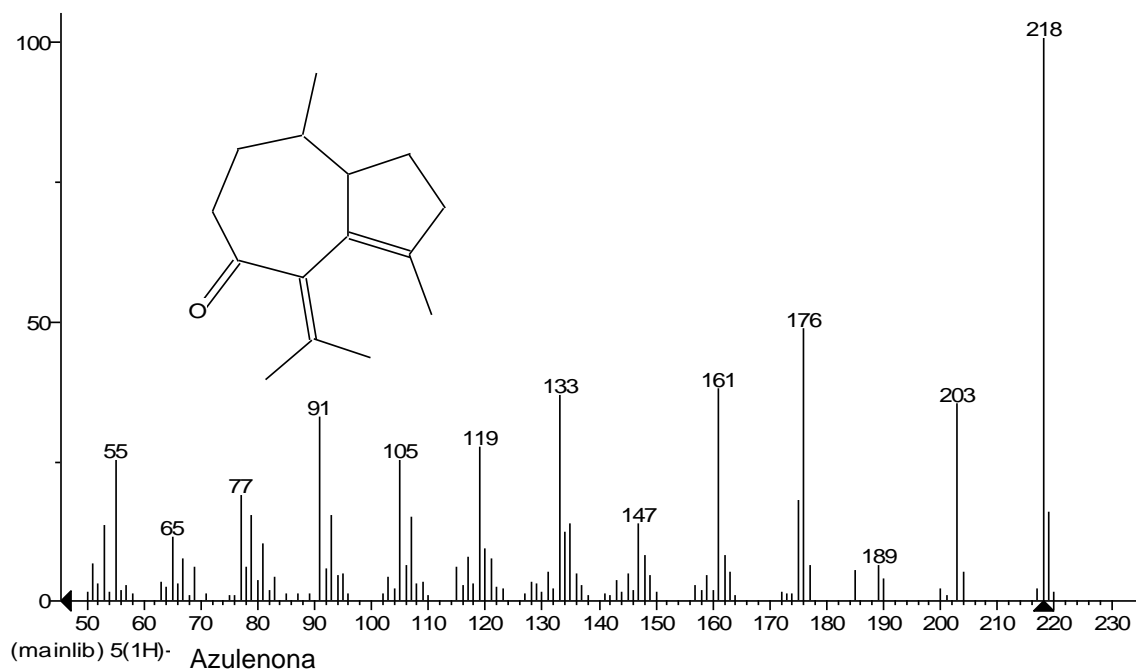
### MUESTRA DE CEREBRO: Extracto de *Caryocar glabrum*



peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	11.748	1585	1601	1622	M	674087	27232587	100.00%	36.935%
2	22.068	3394	3405	3415	M	484347	12447335	45.71%	16.882%
3	22.325	3437	3450	3466	M2	712279	19038845	69.91%	25.822%
4	26.119	4101	4113	4124	M3	238195	7450744	27.36%	10.105%
5	26.713	4207	4216	4228	M	254839	7560744	27.76%	10.255%

Pico 1

Con 79.5 % de relación

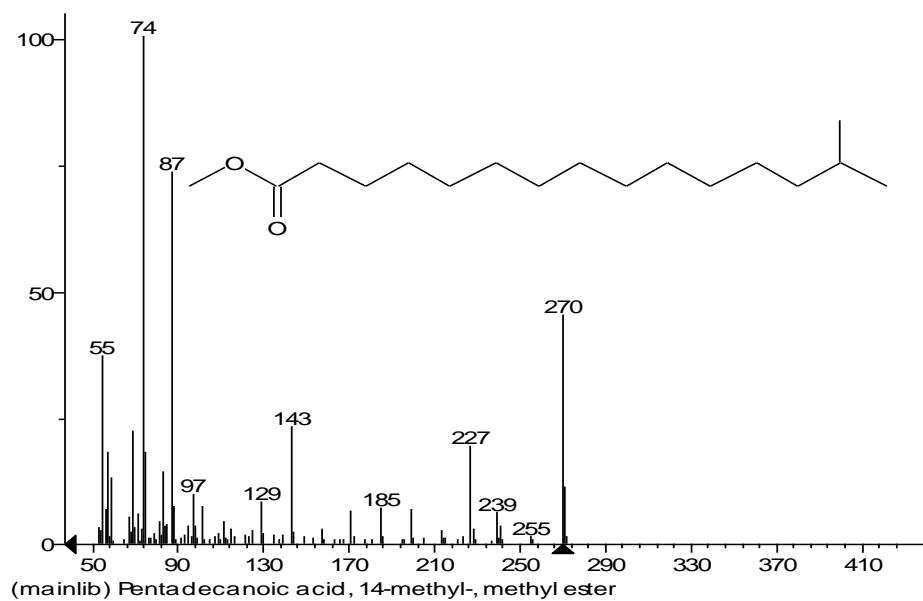


Sinónimo

1,3,8-Dimetil-4-(1-metiletideno)-2,4,6,7,8,8a-hexahidro-5(1H)-azulenone #

Pico 2

Con 90.6 % de relación

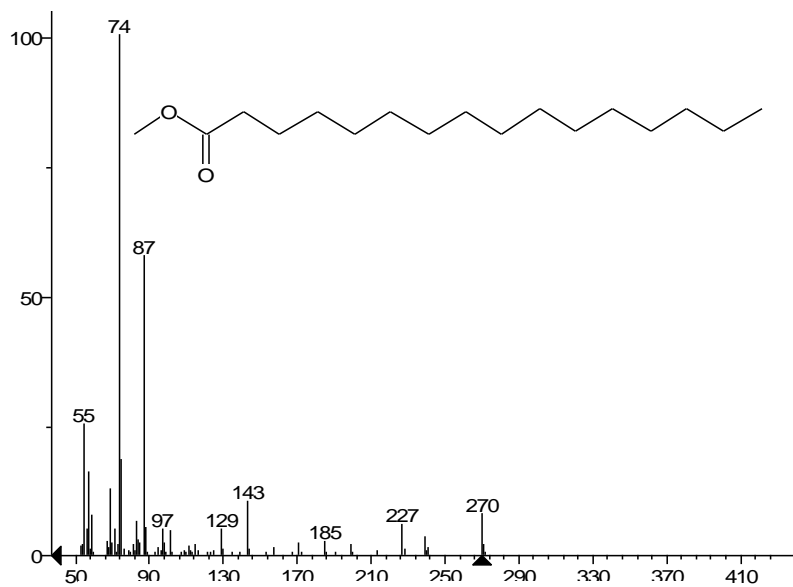


Sinónimos

1.Methyl 14-methylpentadecanoate #

Con 91.6 % de relación





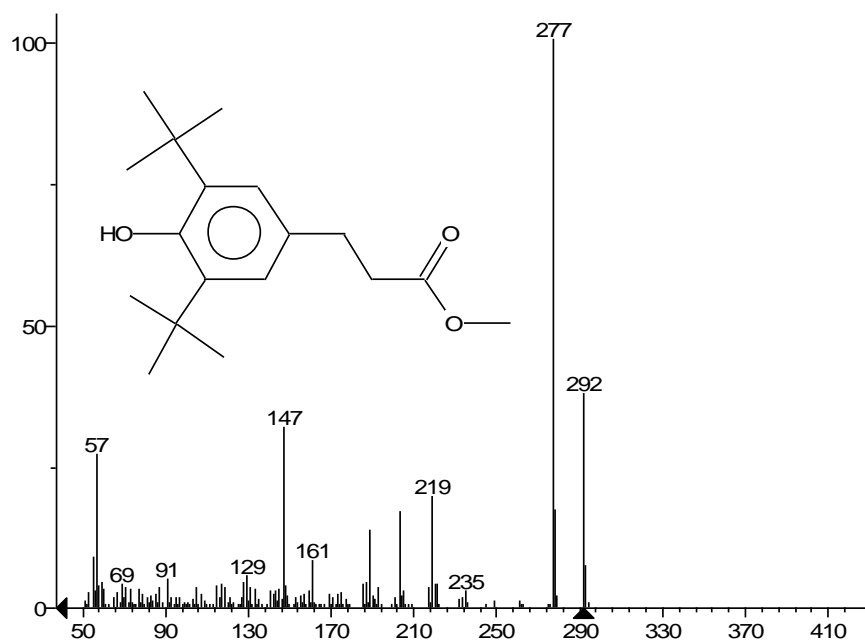
(replib) Ácido Hexadecanoico, metil ester

Sinónimo

- 1.Ácido Palmítico, metil ester
- 2.n- ÁcidoHexadecanoico meti ester

Pico 3

Con 88.2 % de relación

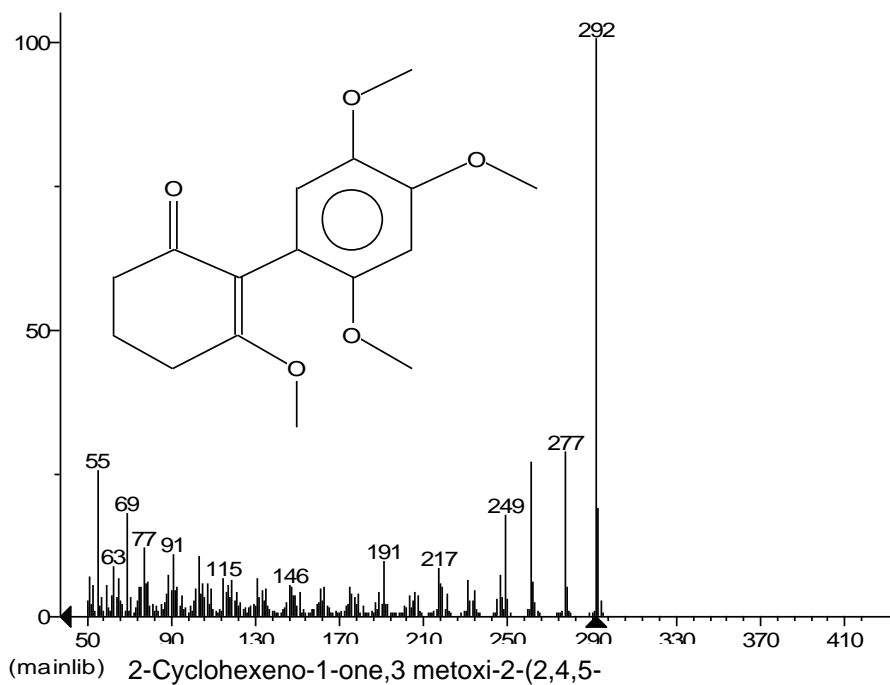


(mainlib) Ácido Benzenopropanico, 3,5-bis (1,1-dimetiletil)-4-hidroxi,

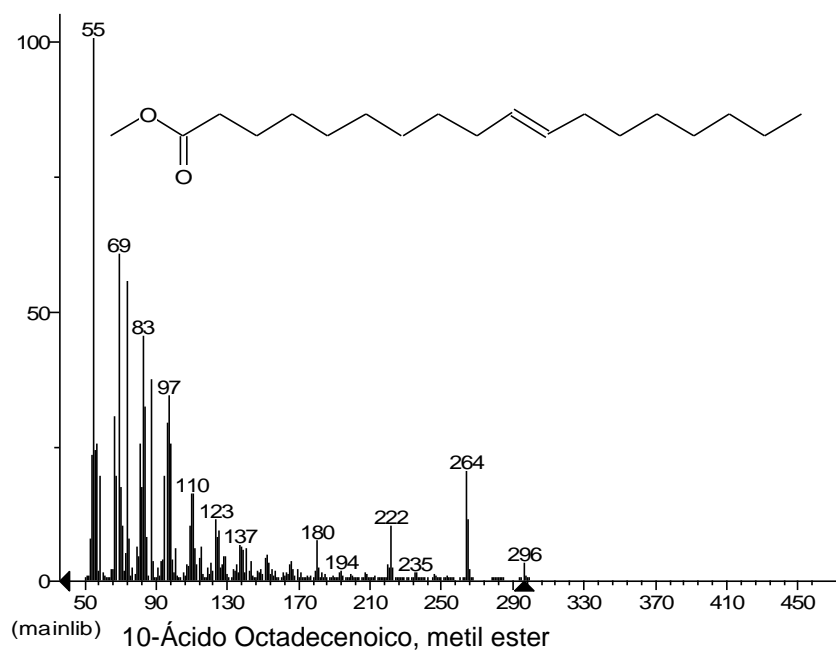
sinonimos

- 1.Metil 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate
- 2.Metil 3-(3,5-ditert-butyl-4-hydroxyphenyl)propanoate #

Con 67.4 % de relación



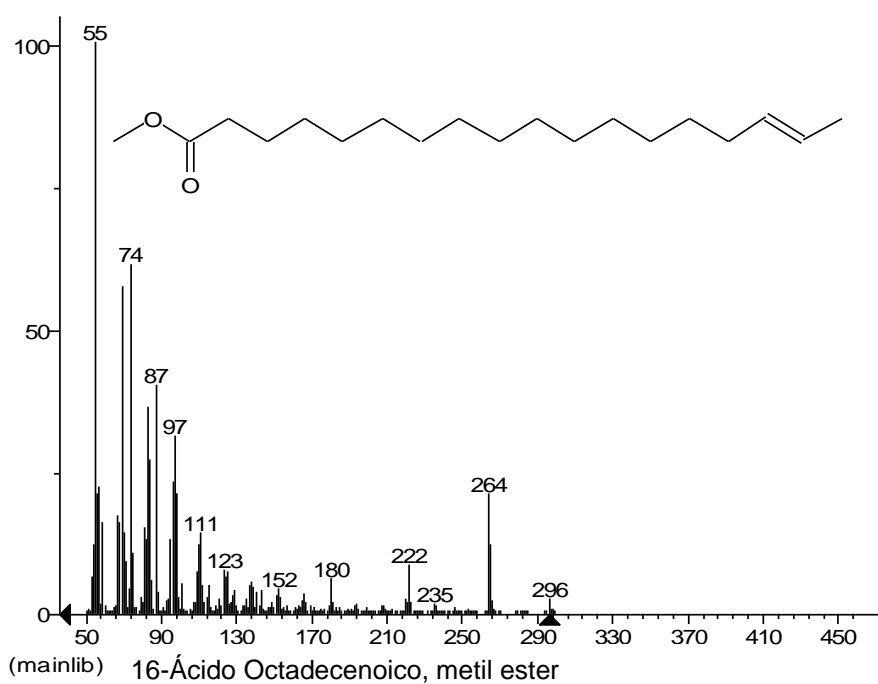
Pico 4  
 Con 83.2 % de relación SI



Sinonimos

1.Metil (10E)-10-octadecenoato #

Con 82.3 % de relación

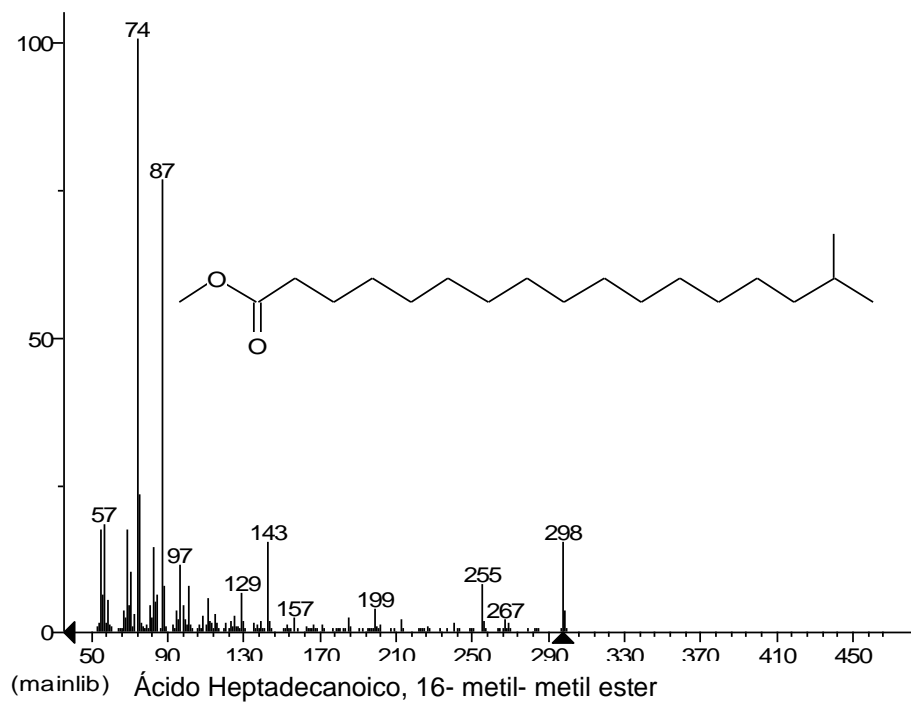


Sinónimos

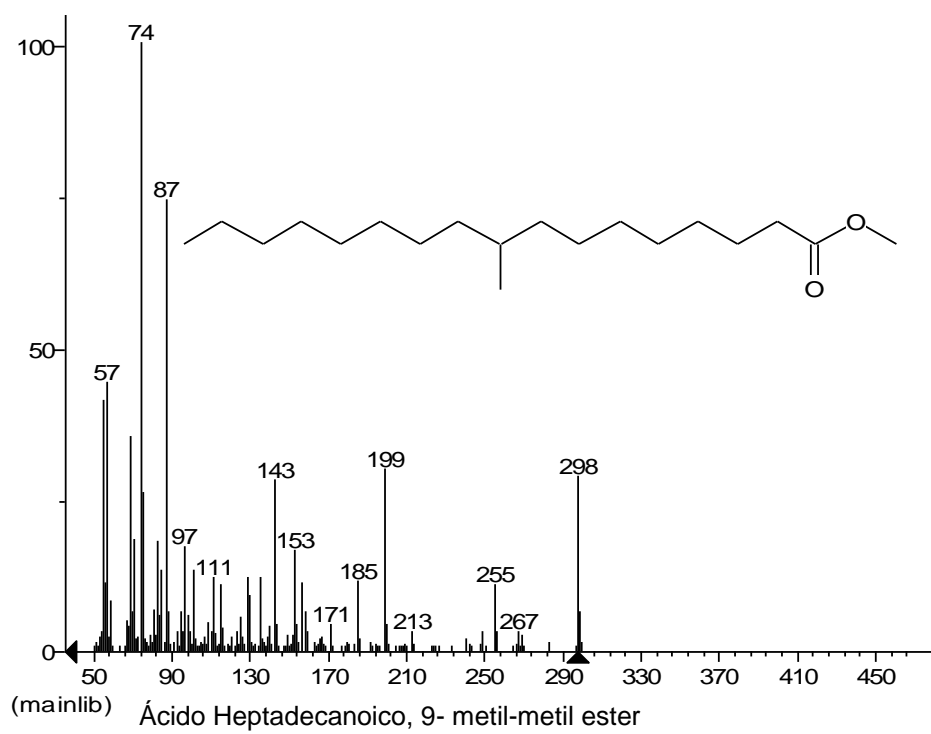
1.Metil (16E)-16-octadecenoato #

Pico 5

Con 83.2 % de relación

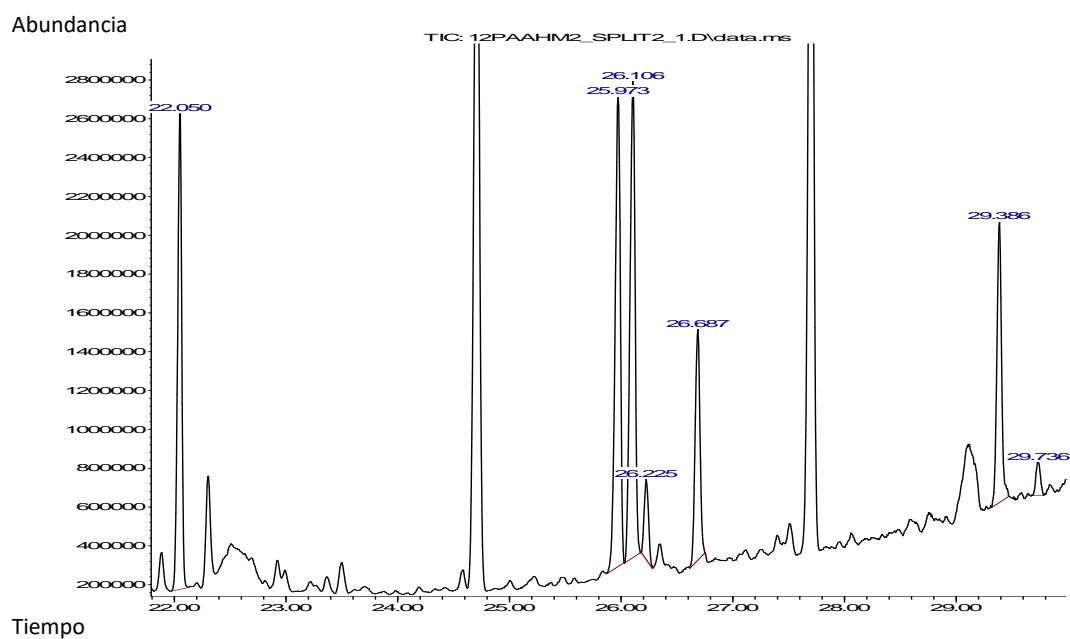


Con 81.8% de relación



## ANEXO 18

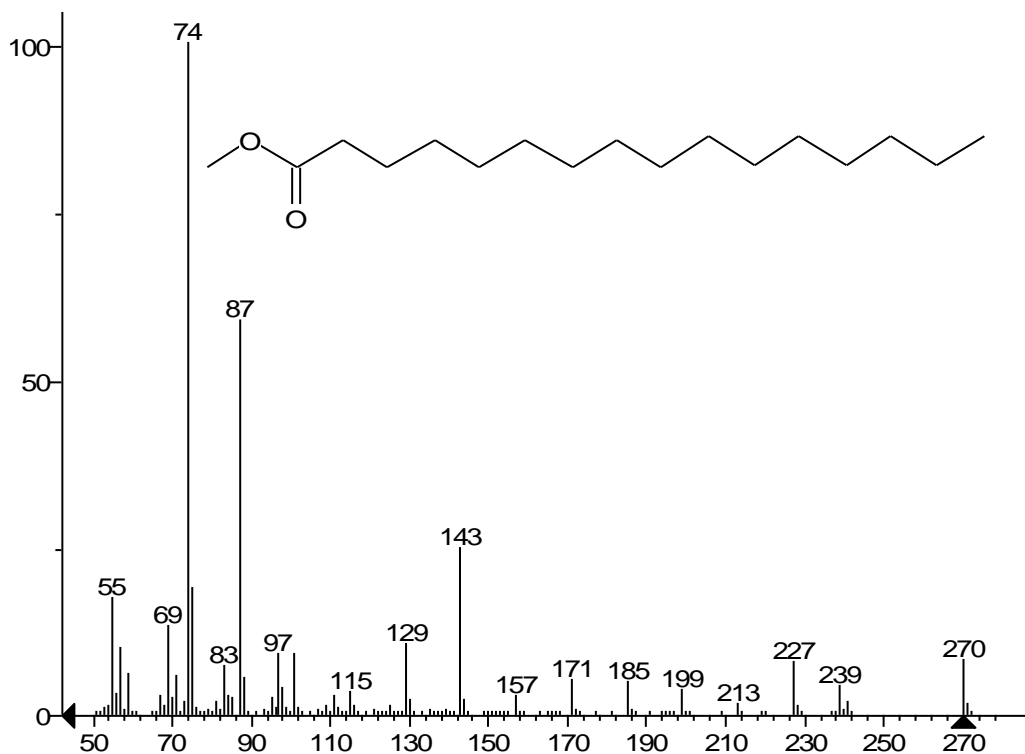
### MUESTRA DE HÍGADO: Extracto de *Caryocar glabrum*



peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	22.050	3386	3402	3415	M	2497289	62872121	79.94%	20.063%
2	25.973	4069	4087	4096	M	2420839	78645600	100.00%	25.096%
3	26.106	4098	4110	4122	M2	2464323	78233105	99.48%	24.965%
4	26.225	4123	4131	4141	M	414187	11022743	14.02%	3.517%
5	26.687	4199	4212	4224	M	1192454	35931745	45.69%	11.466%
6	29.386	4671	4684	4698	M	1459492	41843162	53.20%	13.352%
7	29.736	4736	4745	4753	M5	172796	4825821	6.14%	1.540%

Pico 1

Con 93.1 % de relación

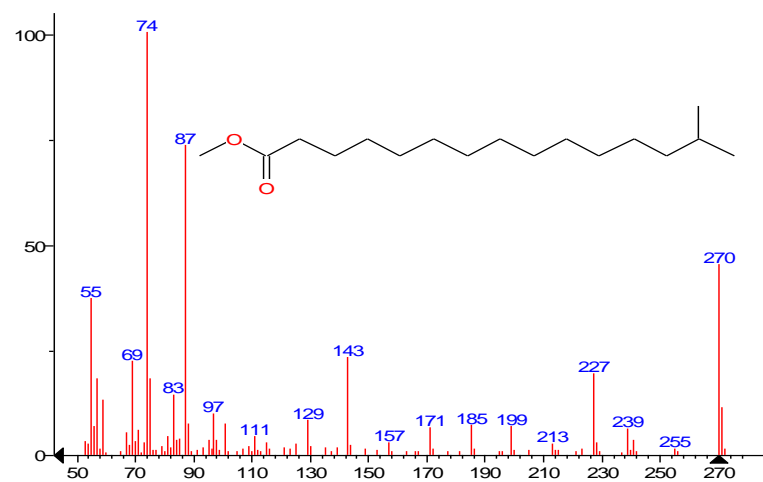


(replib) Ácido Hexadecanoico, metil ester

sinónimos

- 1.Ácido Palmitic o, metil ester
- 2.n-Ácido Hexadecanoico metil ester

Con 87.8 % de relación



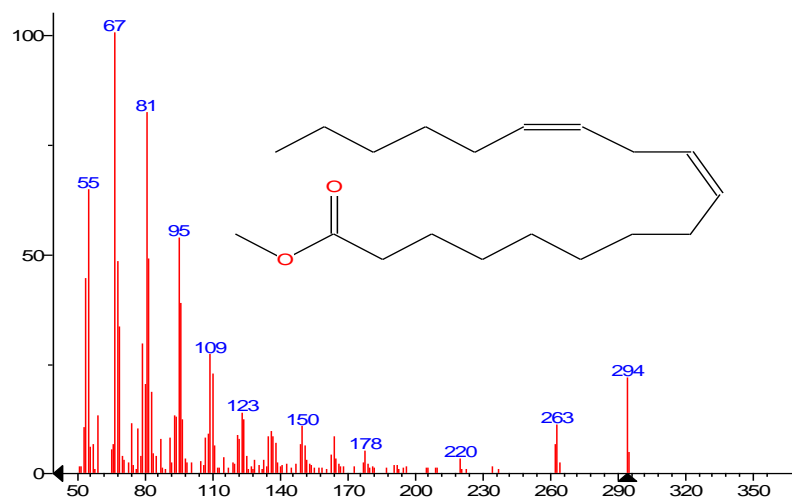
(mainlib) Ácido Pentadecanoico. 14- metil. metilester

Sinonimos

- 1.Metil 14-metilpentadecanoato #

Pico 2

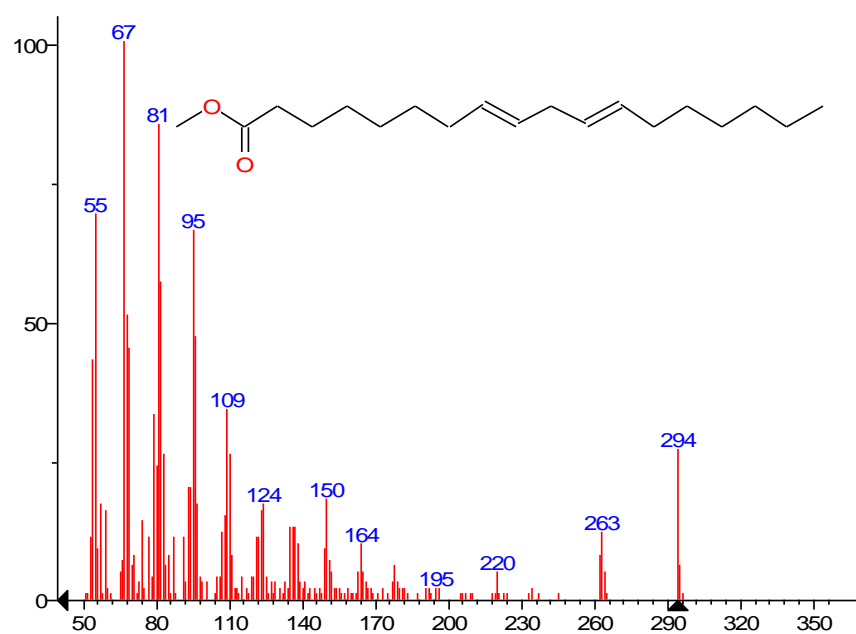
Con 95.8 % de relación



Sinonimos

- 1.Ácido Linoleico, metil ester
- 2.Metil cis,cis-9,12-octadecadienoato

Con 93.1 % de relación

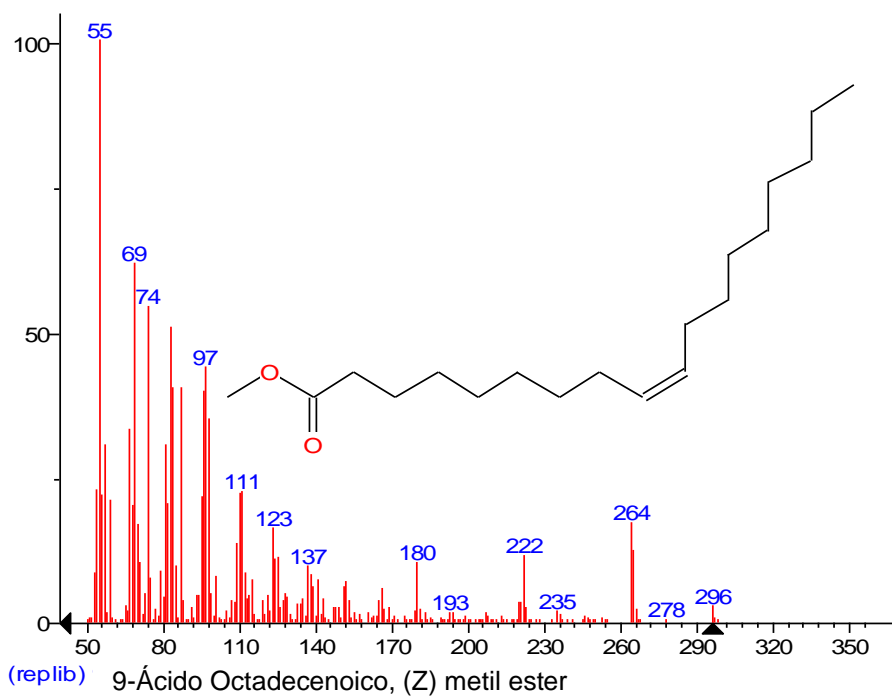


Sinónimos

- 1.Metil (8E,11E)-8,11-octadecadienoato #

Pico 3

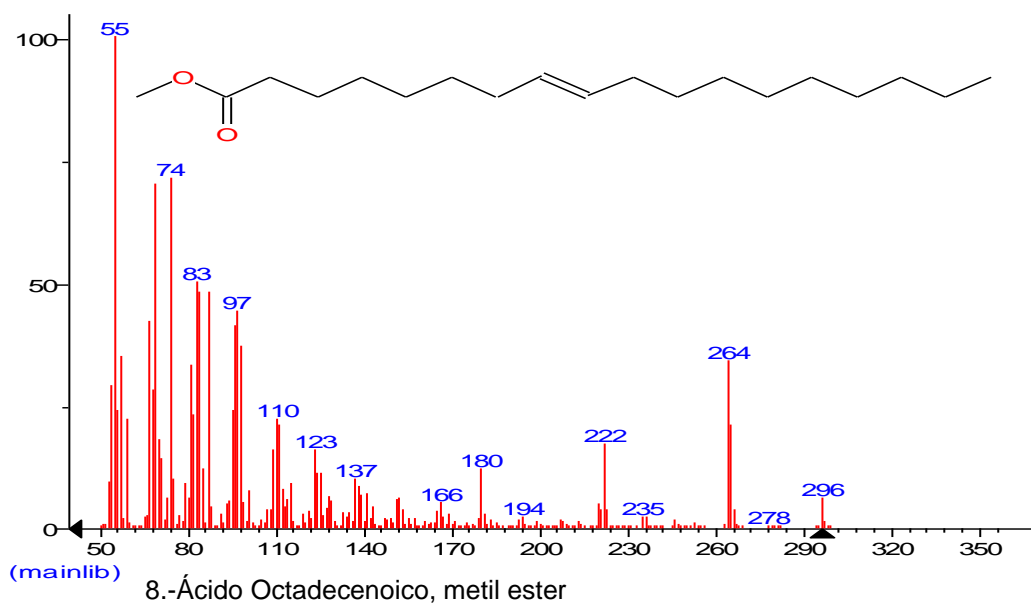
Con 94.2 % de relación



Sinónimos

- 1.Ácido Oleico , metil ester
- 2.Ácido oleico ester 2301
- 3.Metil cis-9-octadecenoato

Con 93.6 % de relacion



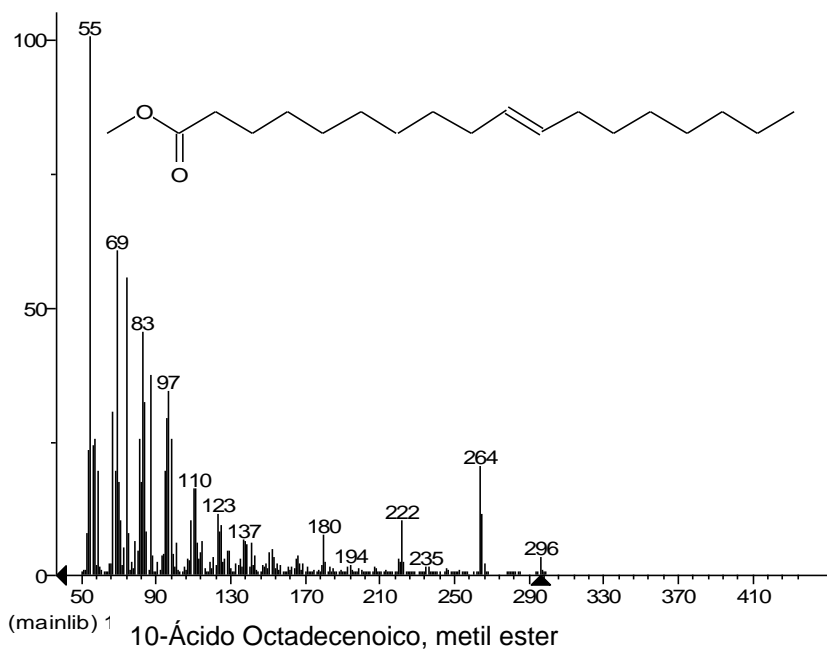
Sinónimos

- 1.Metil (8E)-8-octadecenoato #



Pico 4

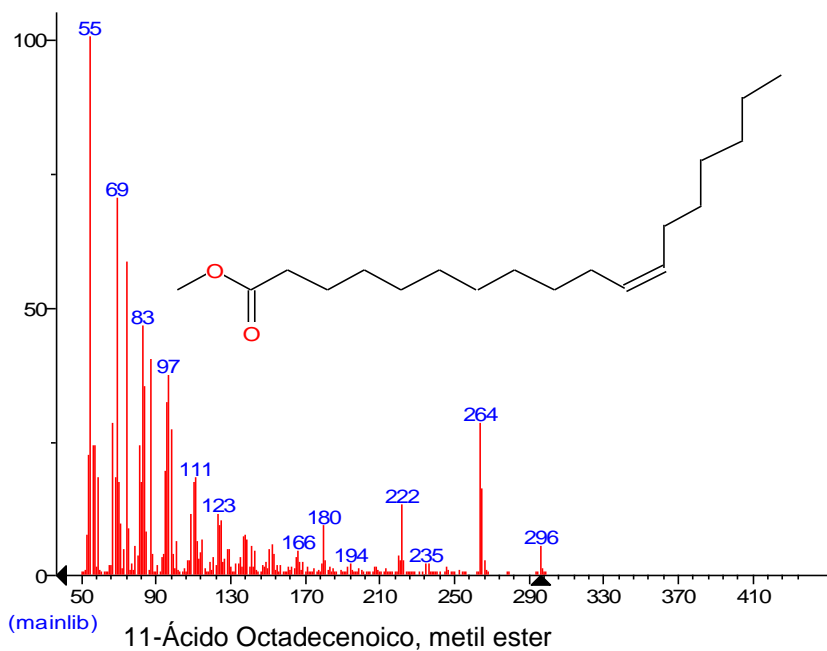
Con 89.3 % de relación



Sinónimos

1. Metil (10E)-10-octadecenoato #

Con 88.1 % de relación



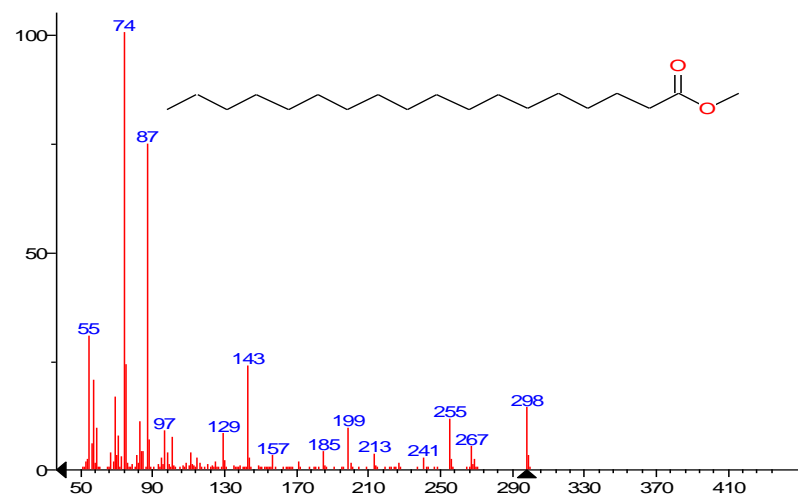
Sinónimos

1. cis-11-Ácido Octadecenoico metil ester

2. Metil cis-octadec-11-enoato

Pico 5

Con 90.9 % de relación

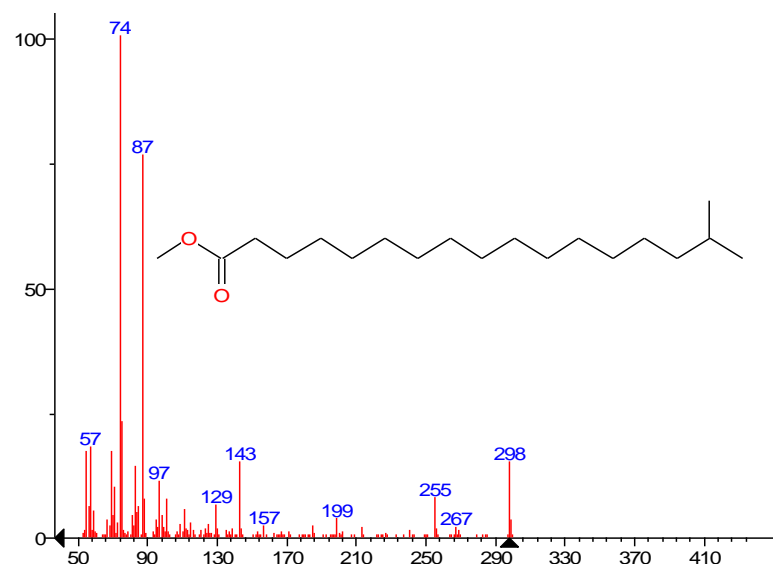


(replib) **Ácido Octadecanoico, metil ester**

Sinónimos

- 1.Ácido Estearico, metil
- 2.n-Ácido Octadecanoico

Con 90.6 % de relación



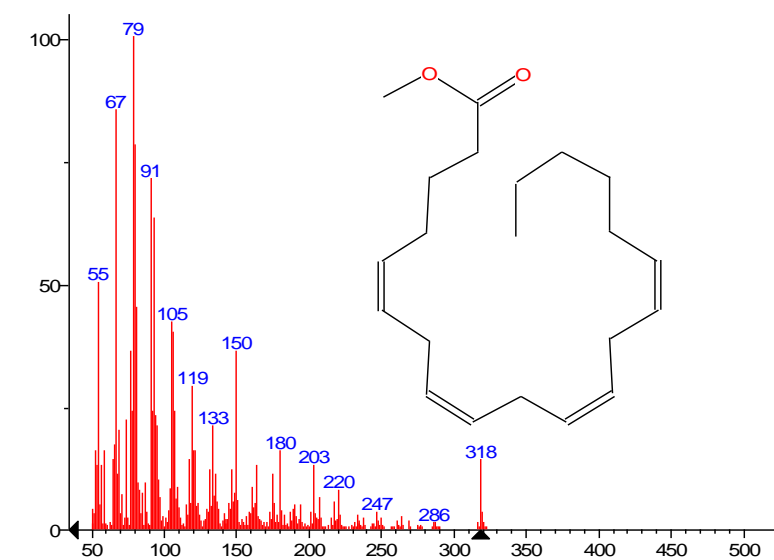
(mainlib) **Ácido Heptadecanoico, 16 metil- metil ester**

Sinónimos

- 1.Metil isostearato
- 2.Metil 16-metilheptadecanoato

Pico 6

Con 87.7 % de relación



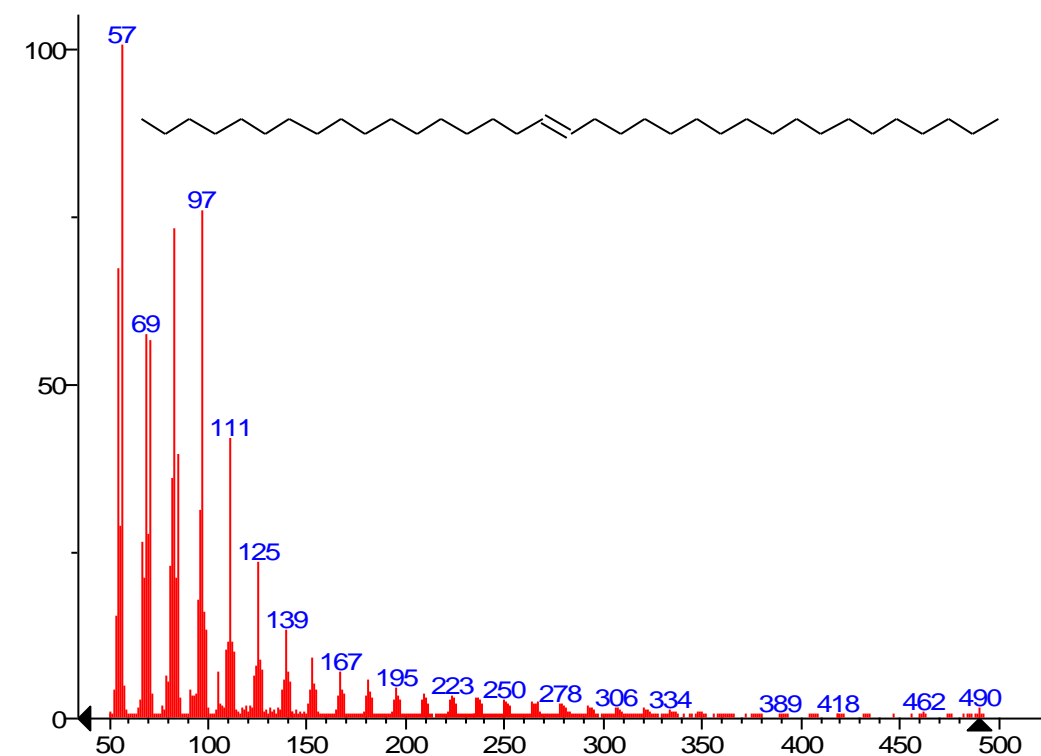
(mainlib) 5,8,11,14- Ácido Eicosatetraenoico, metil ester

Sinónimos

- 1.Ácido Araquidónico metil ester
- 2.Metil all-cis-5,8,11,14-eicosatetraenoato

Pico 7

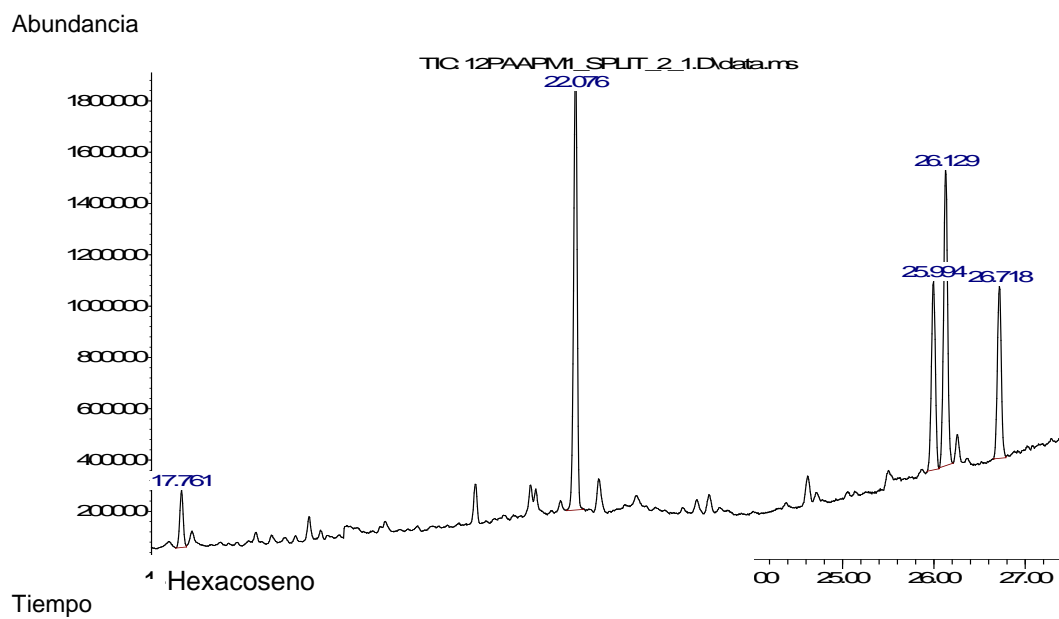
Con 80.2 % de relación



(mainlib) 17 - Pentatriaconteno

## ANEXO 19

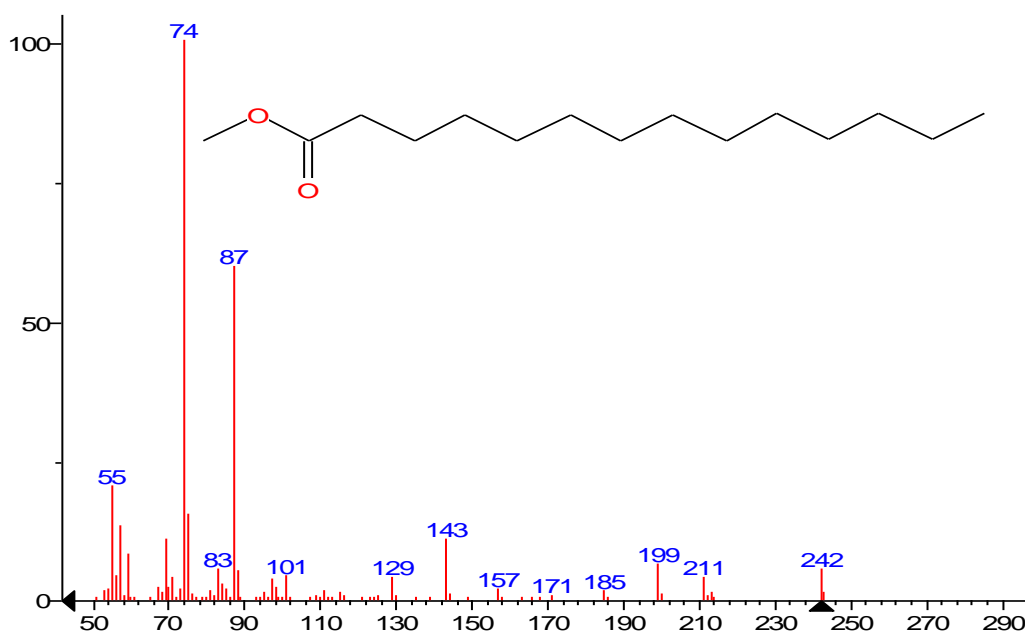
### MUESTRA DE PLASMA: Extracto de *Caryocar glabrum*



peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	17.761	2641	2652	2661	M	224546	5825011	12.34%	4.467%
2	22.076	3389	3406	3421	M	1741488	47189130	100.00%	36.187%
3	25.994	4079	4091	4101	M	736728	22143302	46.92%	16.981%
4	26.129	4102	4114	4128	M	1156831	35220635	74.64%	27.009%
5	26.718	4206	4217	4229	M	670625	20024563	42.43%	15.356%

PICO 1

CON 91.4 % DE RELACIÓN

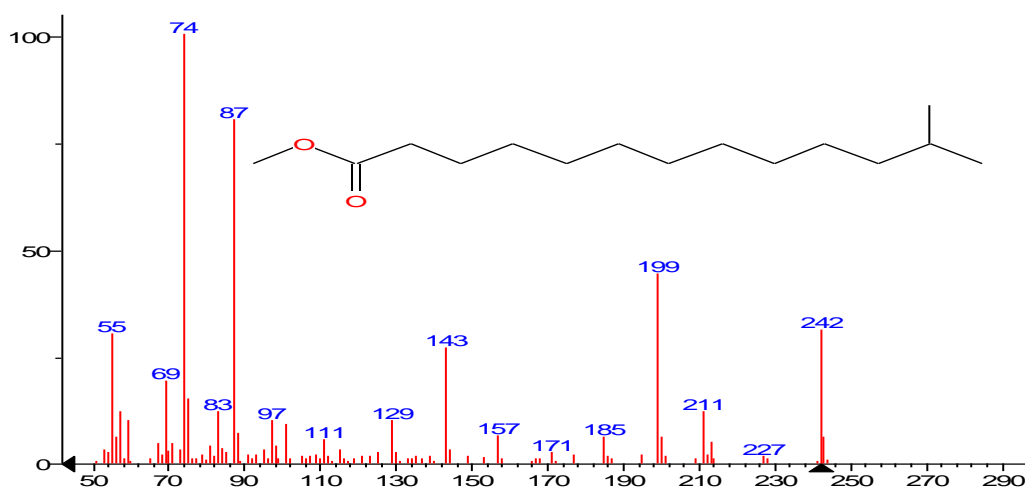


(replib) Metil tetradecanoato

SINONIMOS

- 1.Ácido Tetradecanoico, metil ester
- 2.Ácido Mirístico, metil ester

CON 89.7% DE RELACIÓN



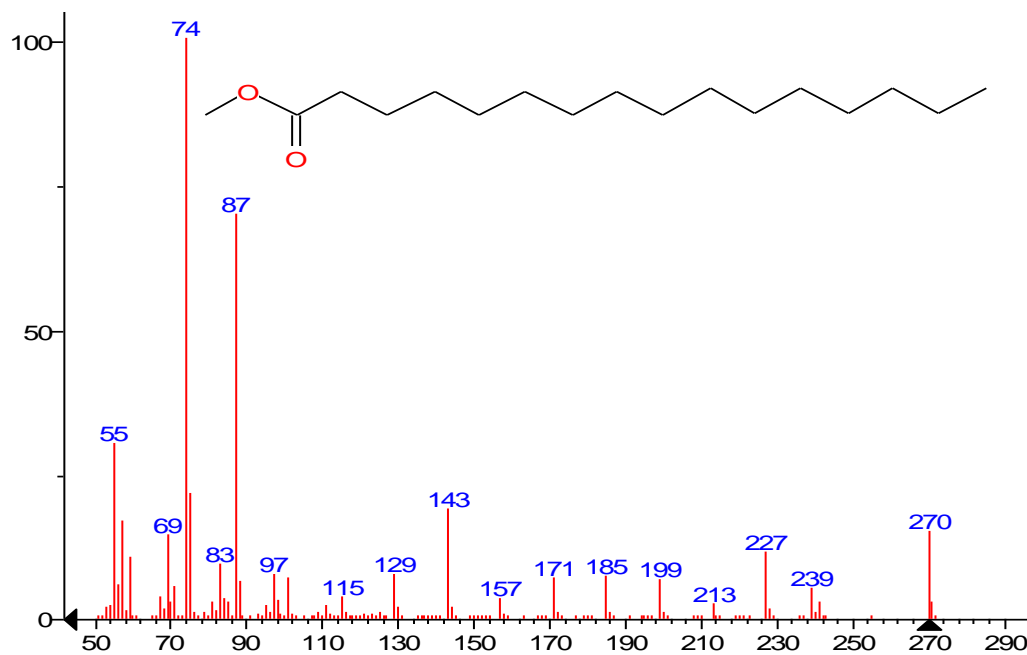
(mainlib) Ácido Tridecanoico, 12-metil-metil ester

SINÓNIMOS:

- 1.Metil isomiristato
- 2.Metil 12-metiltridecanoato

PICO 2

CON 92.8 DE RELACIÓN

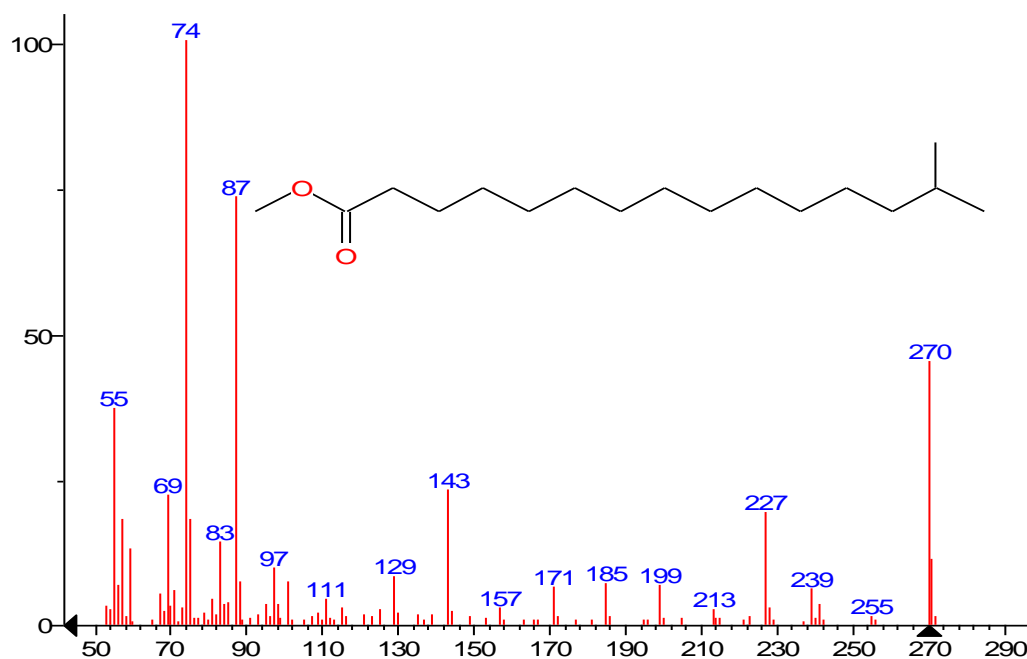


(mainlib) Ácido Hexadecanoico, metil ester

SINÓNIMOS:

1.Ácido Palmítico, metil ester

CON 90.2% DE RELACIÓN

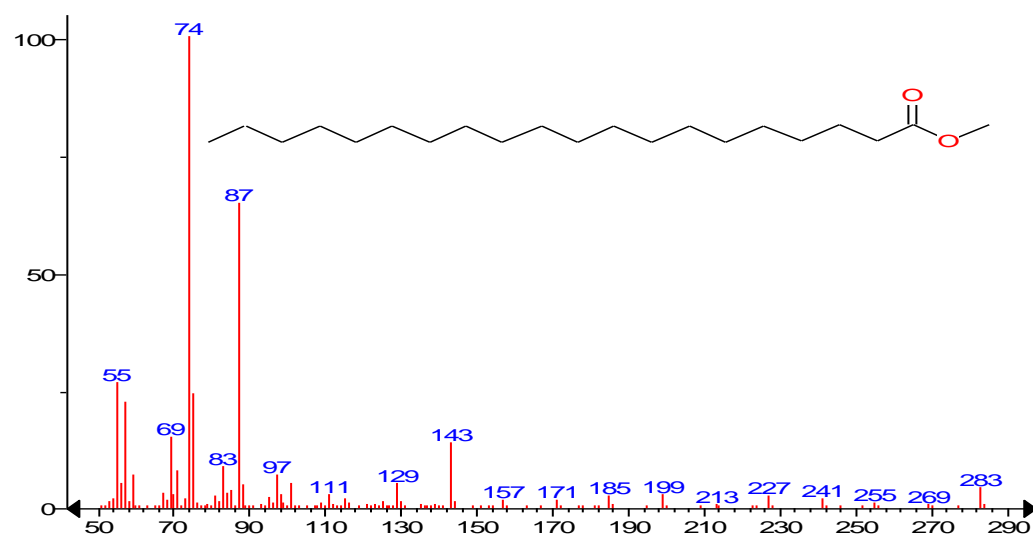


(mainlib) Ácido Pentadecanoico, 14 metil- metil ester

SINÓNIMOS:

1.Metil 14-metilpentadecanoato #

CON 78.9% DE RELACIÓN



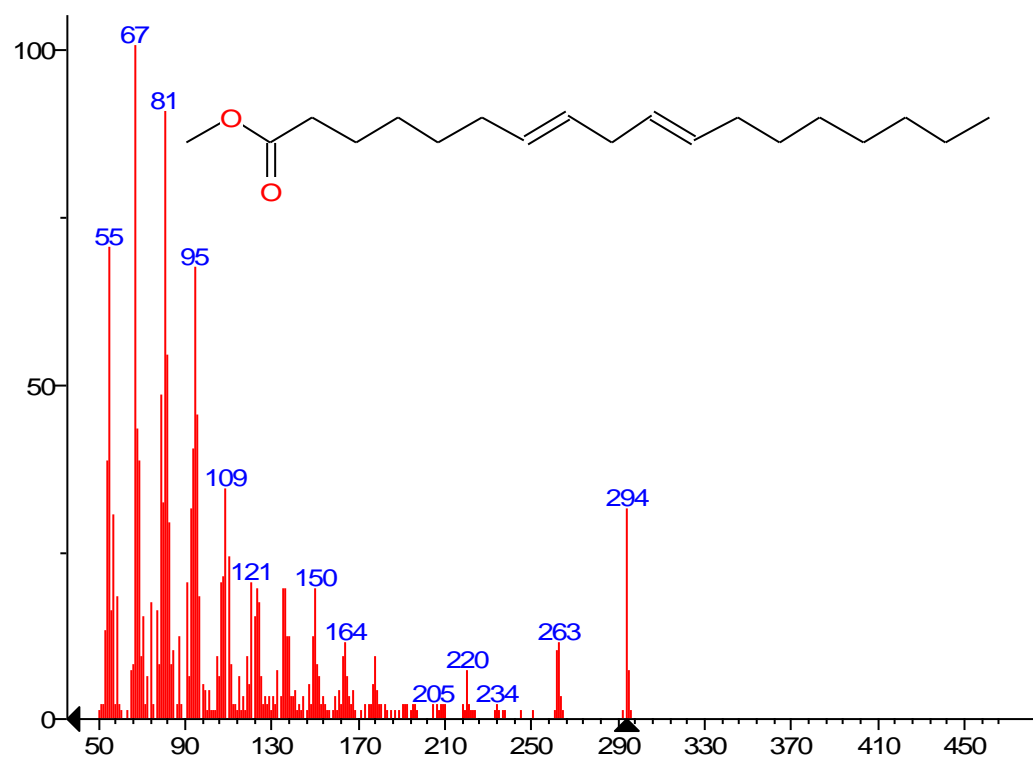
(replib) **Ácido Eicosanoico, metil ester**

SINÓNIMOS:

1. Metil araquisato
2. Metil eicosanoato

PICO 3

CON 89.4% DE RELACION

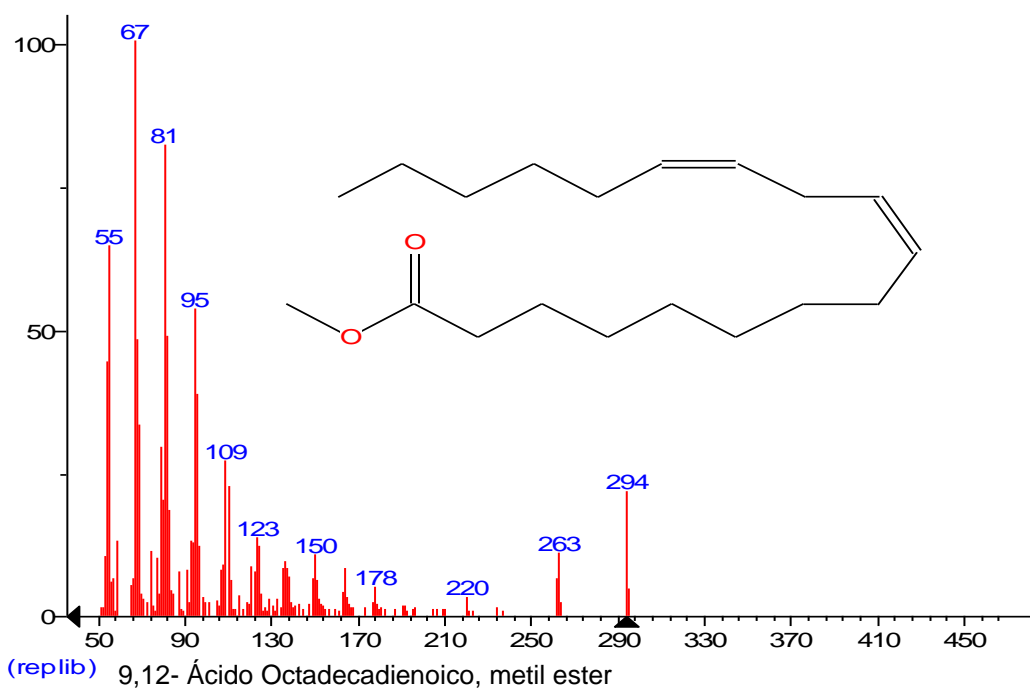


(mainlik) **7,10- Ácido Octadecadienoico, metil ester**

SINÓNIMOS:

1. Metil (7E,10E)-7,10-octadecadienoato #

CON 91.1% DE RELACIÓN

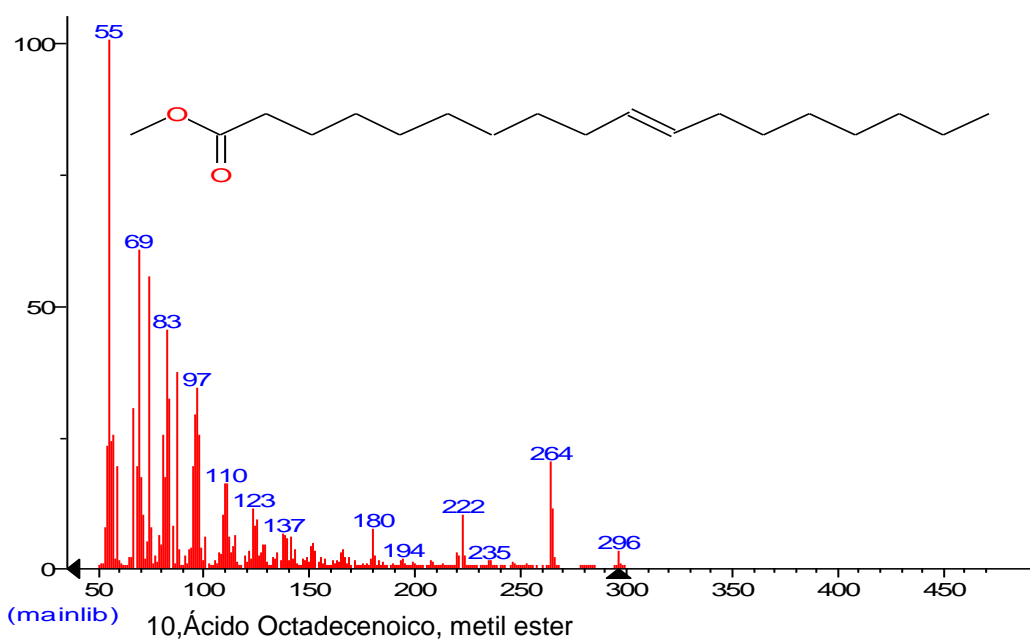


SINÓNIMOS:

1. Ácido Linoleico, metil ester
2. Metil cis,cis-9,12-octadecadienoato

PICO 4

CON 91.3% DE RELACIÓN

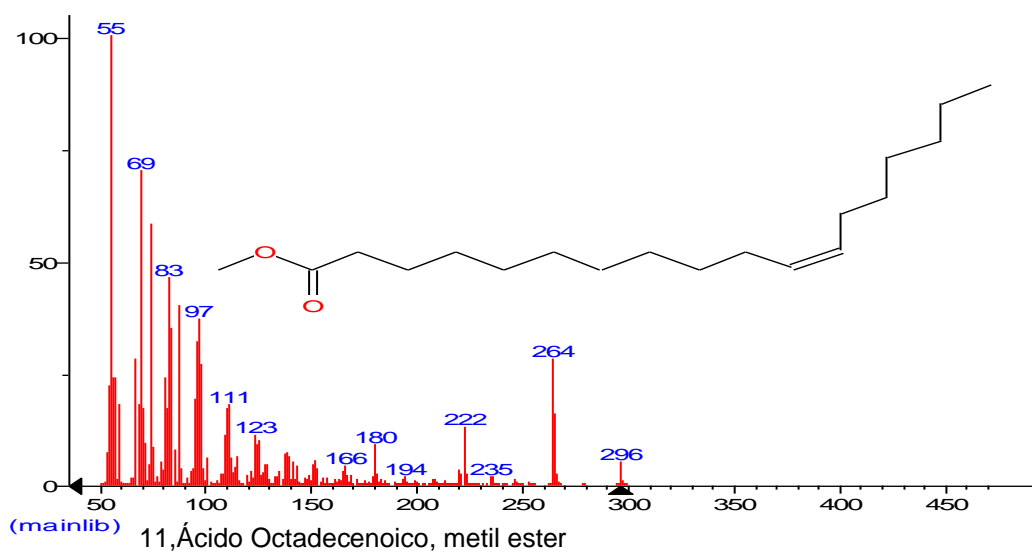


SINÓNIMOS:

1. Metil (10E)-10-octadecenoato



CON 91% DE RELACIÓN

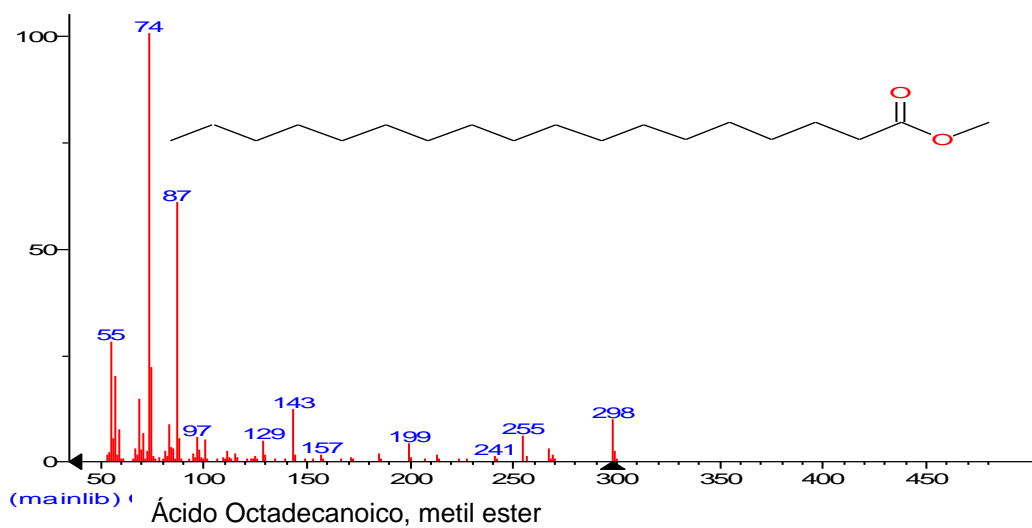


SINÓNIMOS:

- 1.cis-11-Ácido Octadecenoico metil ester
- 2.Metil cis-octadec-11-enoato

PICO 5

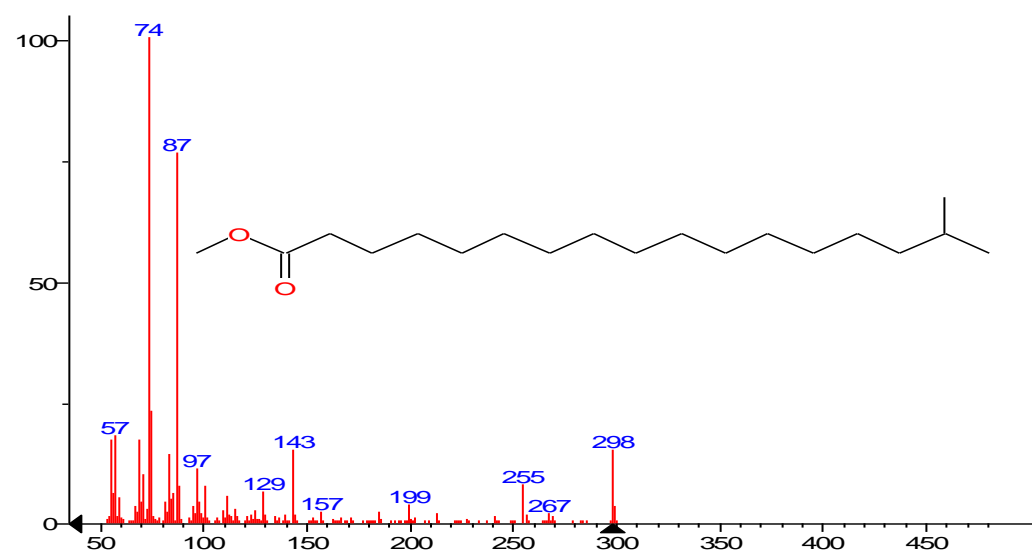
CON 91.2% DE RELACIÓN



SINONIMO

- 1.n-Ácido Octadecanoico, metil ester
- 4.Metil n-octadecanoato

CON 88.5% DE RELACIÓN



(mainlib) | Ácido Heptadecanoico, 16-metil- metil ester

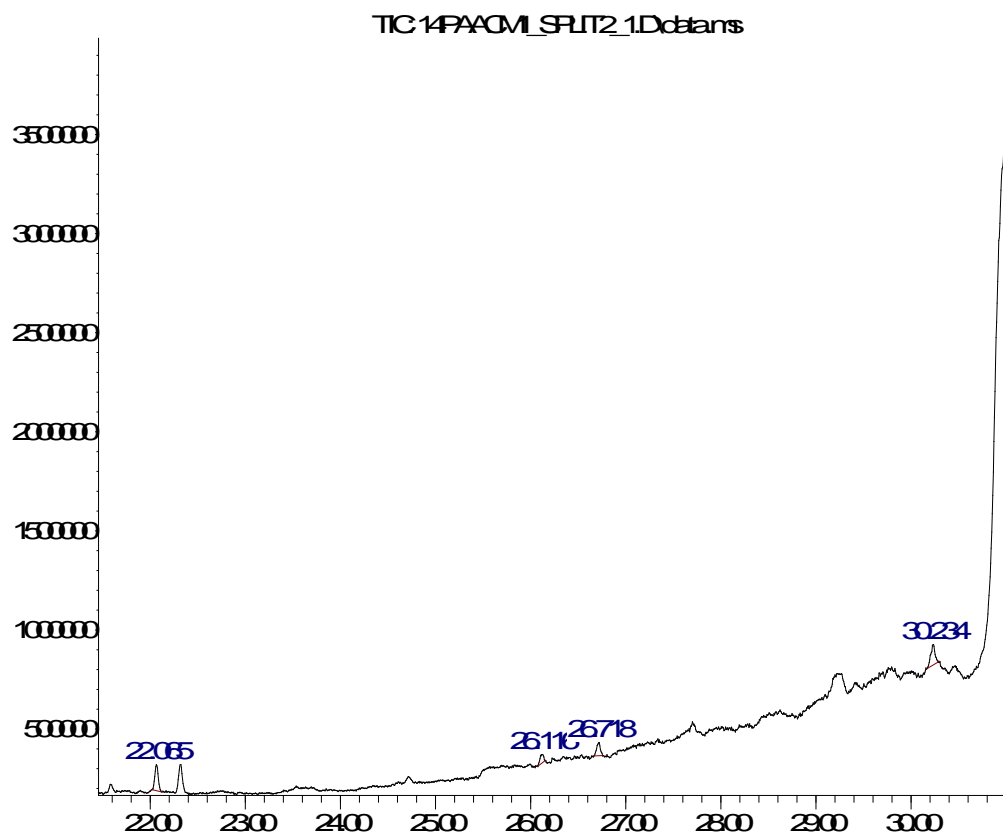
SINÓNIMOS:

1. Metil isostearato
2. Metil 16-metilheptadecanoato

## ANEXO 20

### MUESTRA DE CEREBRO: Extracto de *Tapirira guianensis*

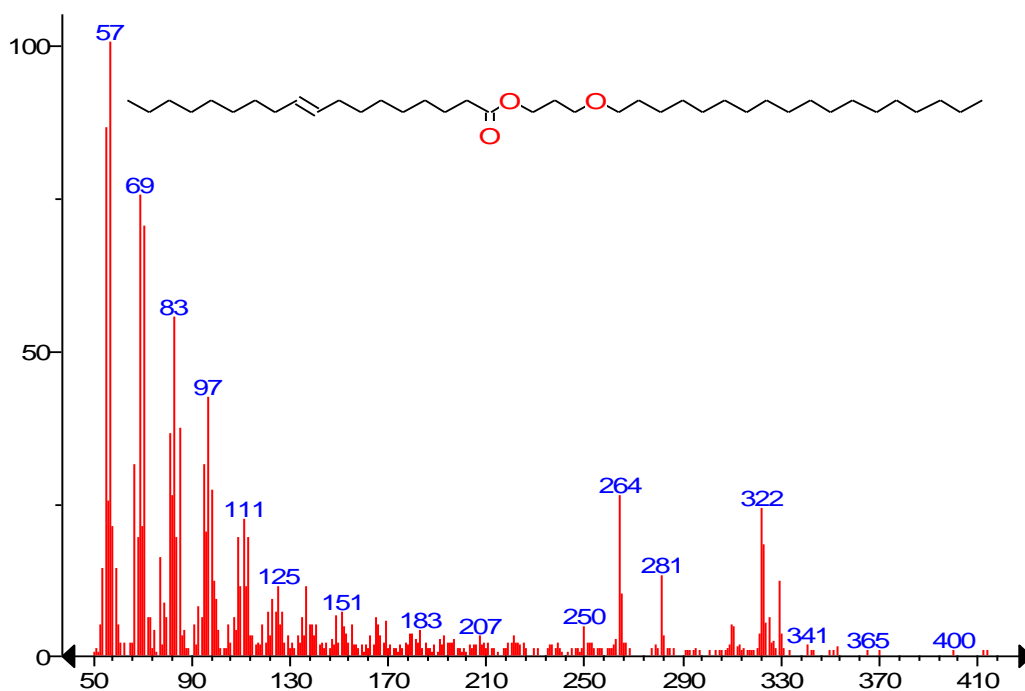
Abundancia



peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	22.065	3396	3404	3413	M2	131848	3301405	100.00%	34.489%
2	26.116	4105	4112	4118	M9	46897	1183625	35.85%	12.365%
3	26.718	4209	4217	4224	M	69458	1804973	54.67%	18.856%
4	30.234	4819	4832	4842	M7	105432	3282218	99.42%	34.289%

Pico 1

Con 75 % de relación



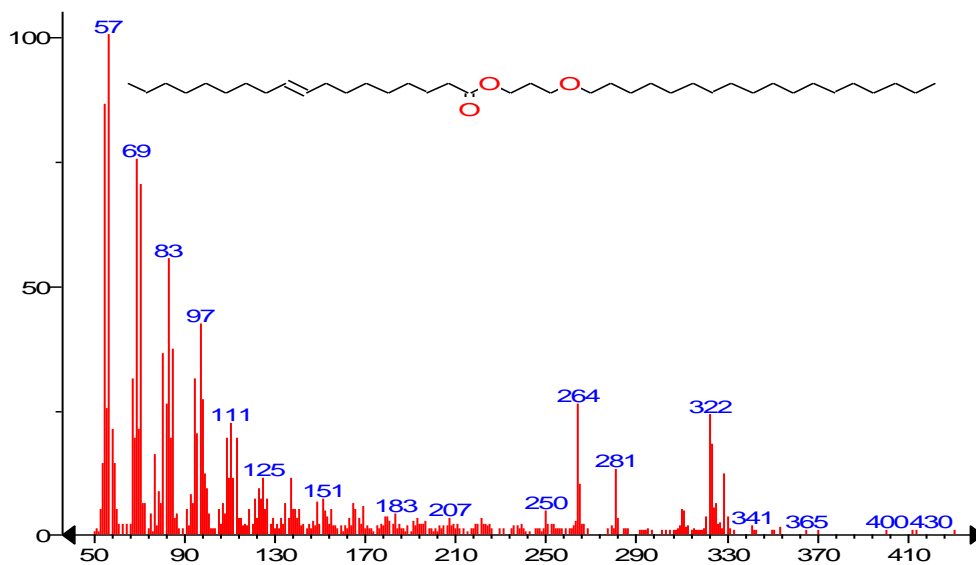
(replib) Ácido Oleico, 3-(octadeciloxi)propil ester

Sinónimos:

1.Metil 4

PICO 2

CON 79.2 % DE RELACIÓN



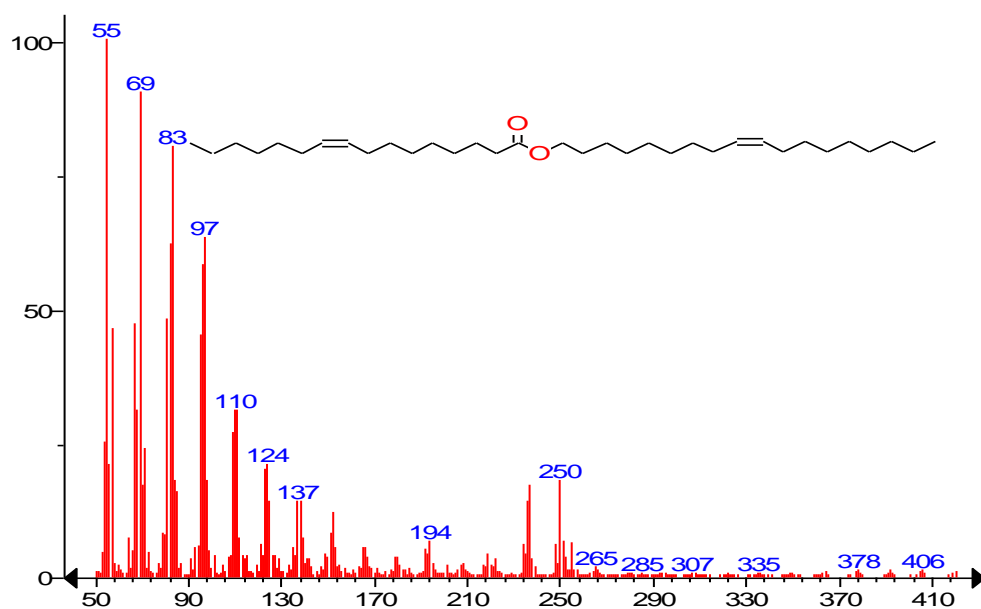
(replib) Ácido Oleico, 3-(octadeciloxi)- propil ester

SINÓNIMOS:

1.3-(Octadeciloxy)propil (9E)-9-octadecenoato

PICO 3

CON 73.4% DE RELACIÓN



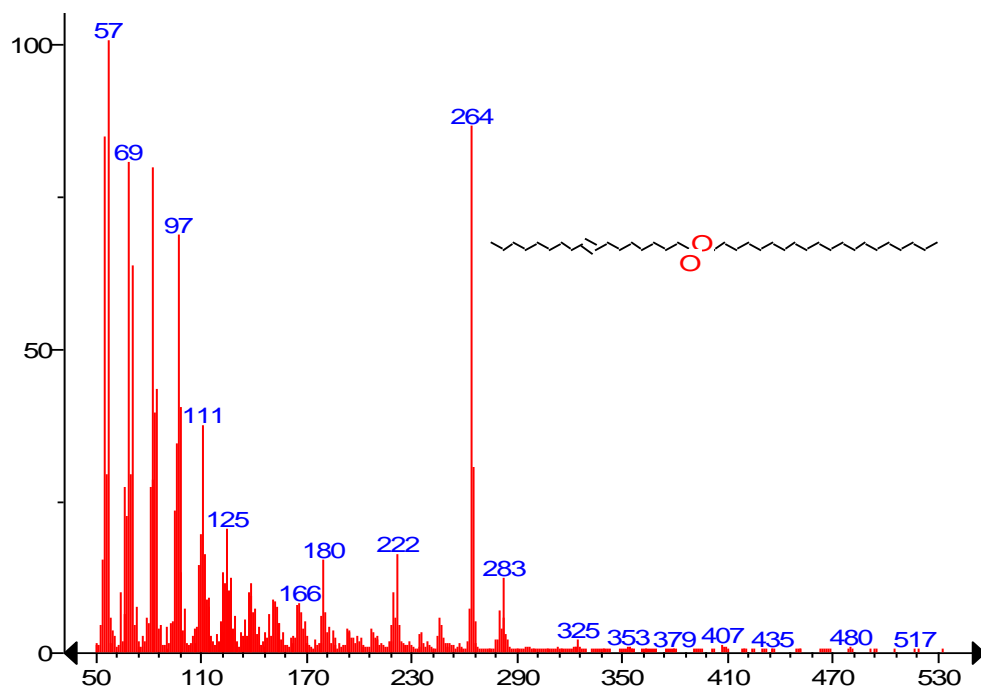
(mainlib) 9-Ácido Hexadecenoico, 9-octadecenil ester

SINÓNIMOS:

1.(9Z)-9-Octadecenil (9Z)-9-hexadecenoato

PICO 4

CON 73.9% DE RELACIÓN



(mainlib) Ácido Oleico, eicosil ester

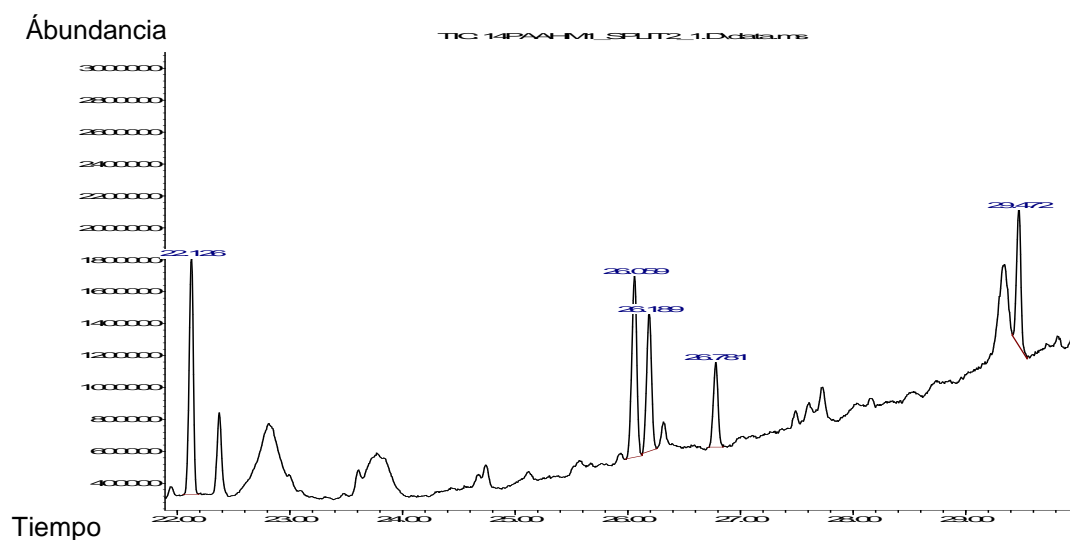
SINÓNIMOS:

1.9-Ácido Octadecenoico (Z)-, eicosil ester

2.Icosil (9E)-9-octadecenoato

## ANEXO 21

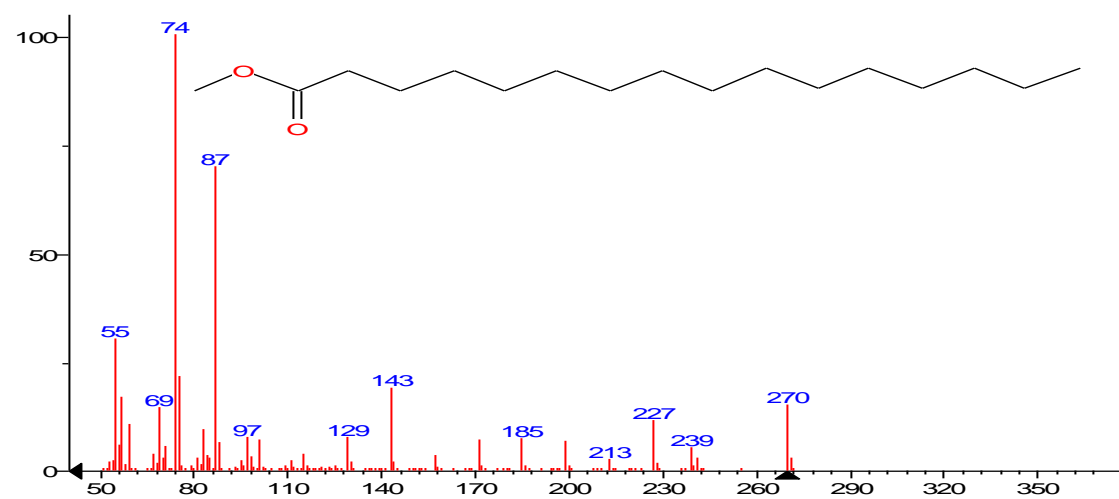
### MUESTRA DE HÍGADO: Extracto de *Tapirira guianensis*



peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	22.126	3402	3415	3426	M	1484225	38956878	100.00%	27.937%
2	26.059	4088	4102	4114	M	1138781	35494137	91.11%	25.454%
3	26.189	4114	4125	4137	M	864225	26651929	68.41%	19.113%
4	26.781	4217	4228	4239	M	535511	15382642	39.49%	11.031%
5	29.472	4688	4698	4711	M	859317	22960244	58.94%	16.465%

#### PICO 1

CON 94 % DE RELACIÓN



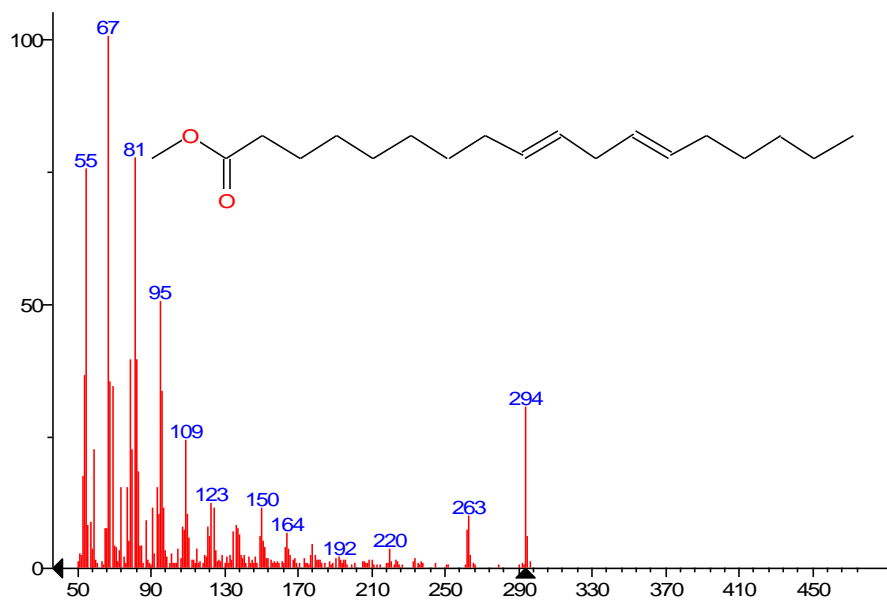
(mainlib) Ácido Hexadecanoico, metil ester

SINÓNIMOS

1.Ácido Palmítico, metil ester

PICO 2

CON 89 % DE RELACIÓN

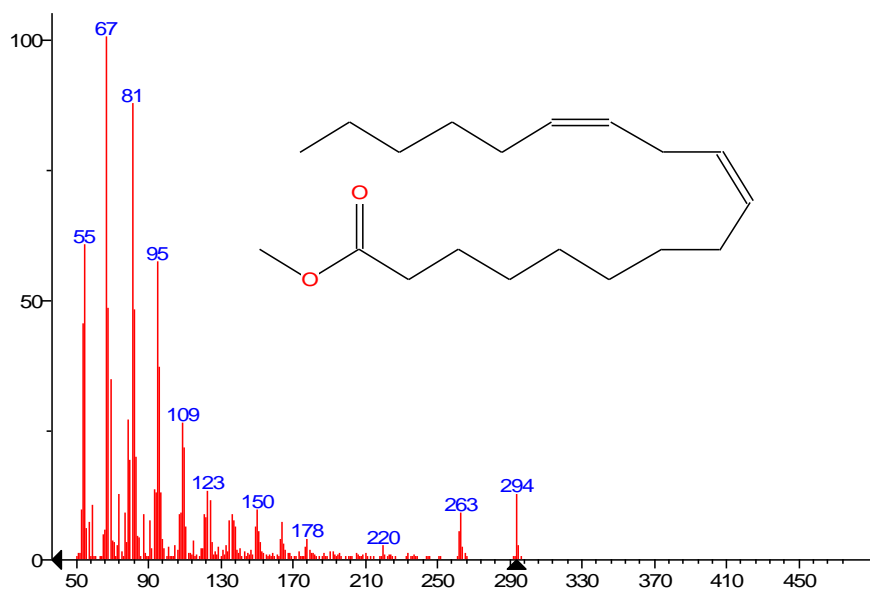


(replib) 9,12 Ácido Octadecadienoico- metil ester

SINÓNIMOS

1.Ácido Linolelaídico, metil ester

CON 88.6 % DE RELACIÓN



(mainlib) 9,12 Ácido Octadecadienoico- metil ester

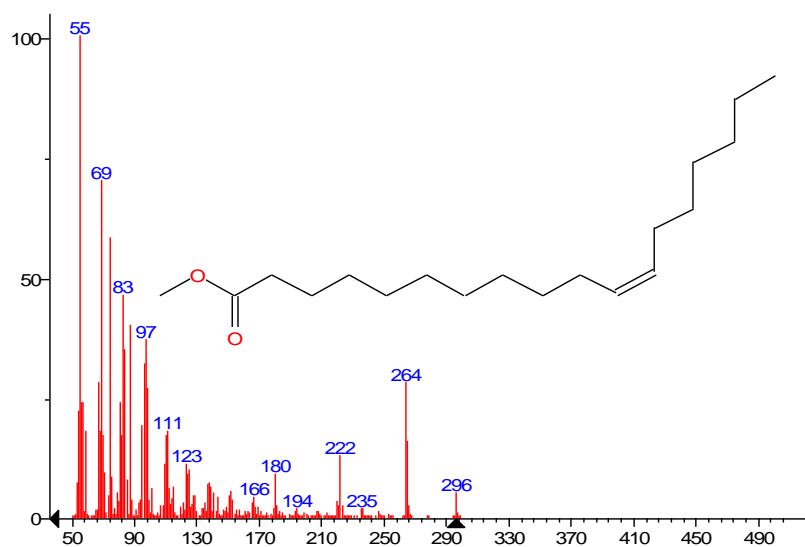
SINÓNIMOS

1.Ácido Linoleico, metil ester

2.Metil cis,cis-9,12-octadecadienoato

PICO 3

CON 87.3 % DE RELACIÓN

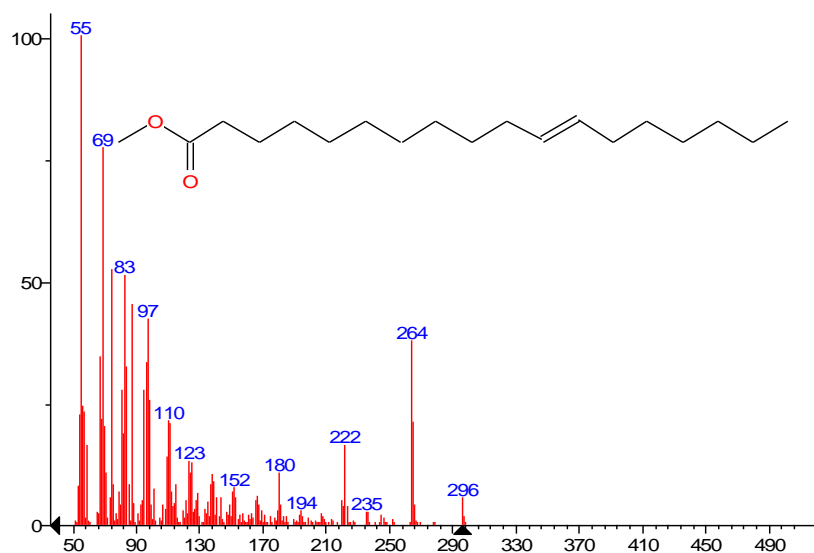


(mainlib) 11- Ácido Octadecenoico- metil ester

SINÓNIMOS

- 1.cis-11-Ácido Octadecenoico metil ester
- 2.Metil cis-octadeco-11-enoato

CON 88.4 % DE RELACION



(replib) 11 Ácido Octadecenoico- metil ester

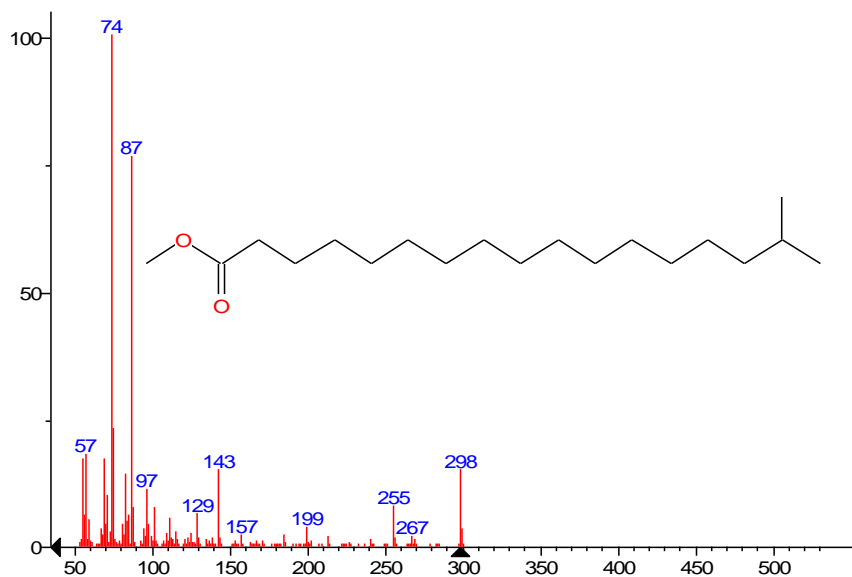
SINÓNIMOS

- 1.Metil 11-octadecenoato
- 2.Octadeco-11-ácido enoic o, metil ester



PICO 4

CON 86.3 % DE RELACION

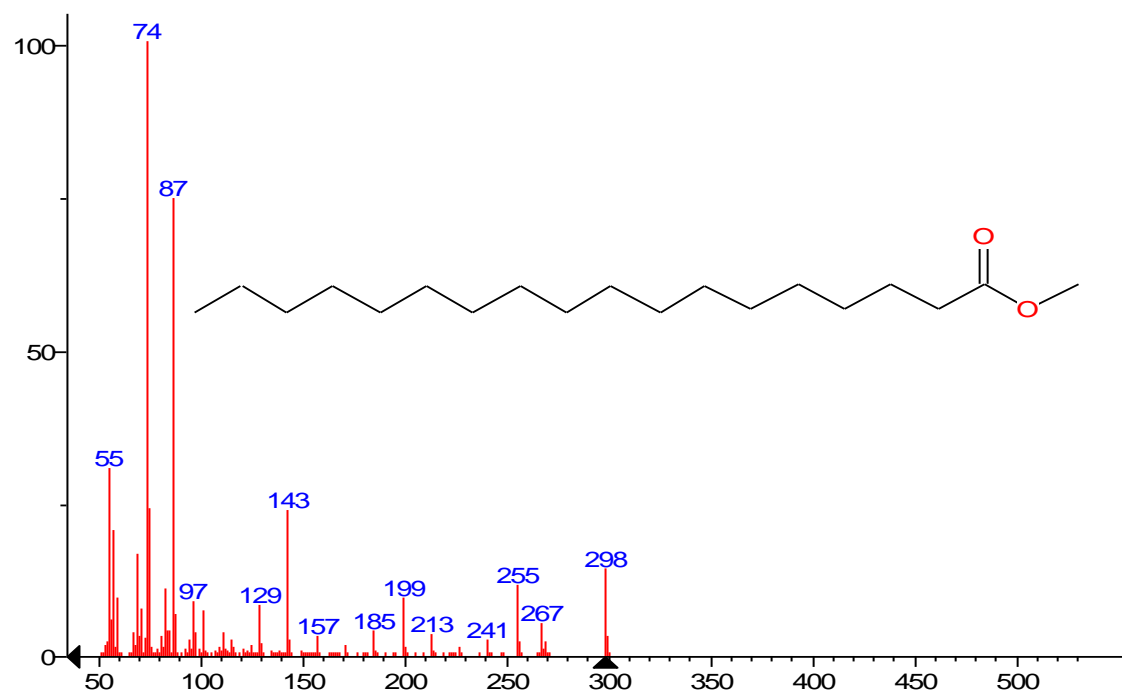


(mainlib) Ácido Heptadecanoico, 16 metil, metil ester

SINÓNIMOS

1. Metil isostearato
2. Metil 16-metilheptadecanoato

CON 81.6 % DE RELACIÓN



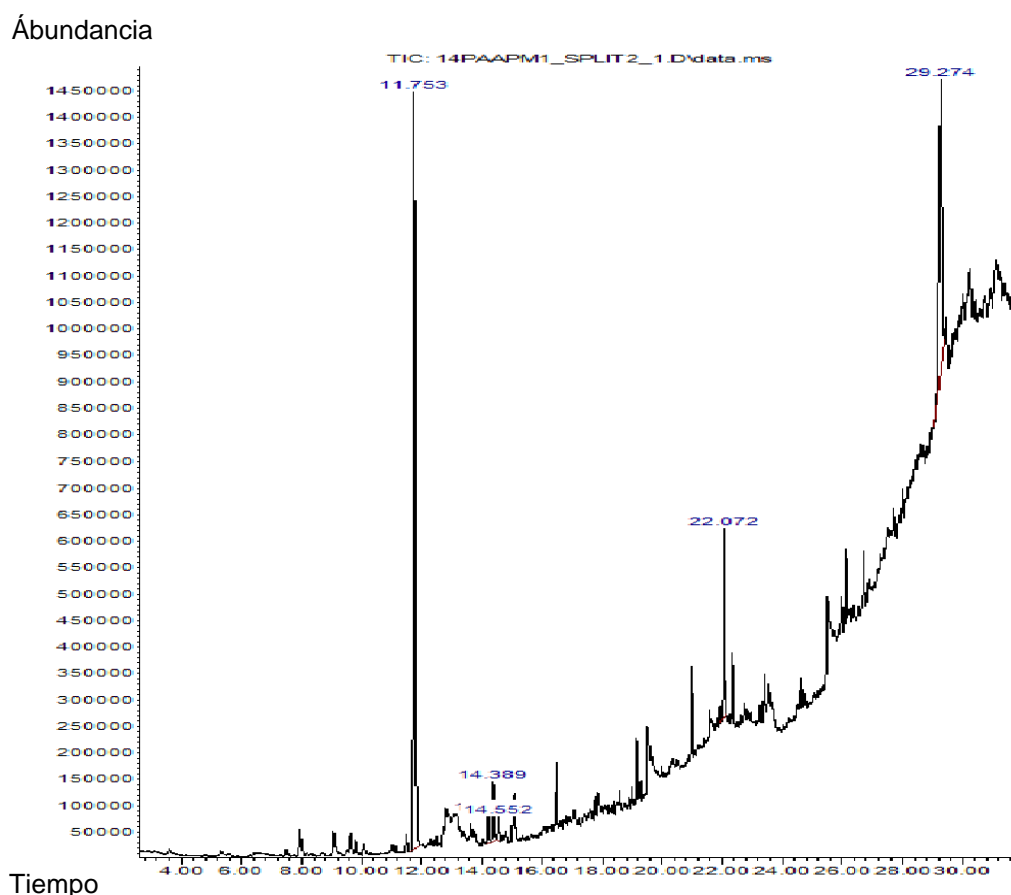
(replib) Ácido Octadecanoico- metil ester

SINÓNIMOS

1. Ácido Stearico, metil ester
2. n-Ácido Octadecanoico, metil ester

## ANEXO 22

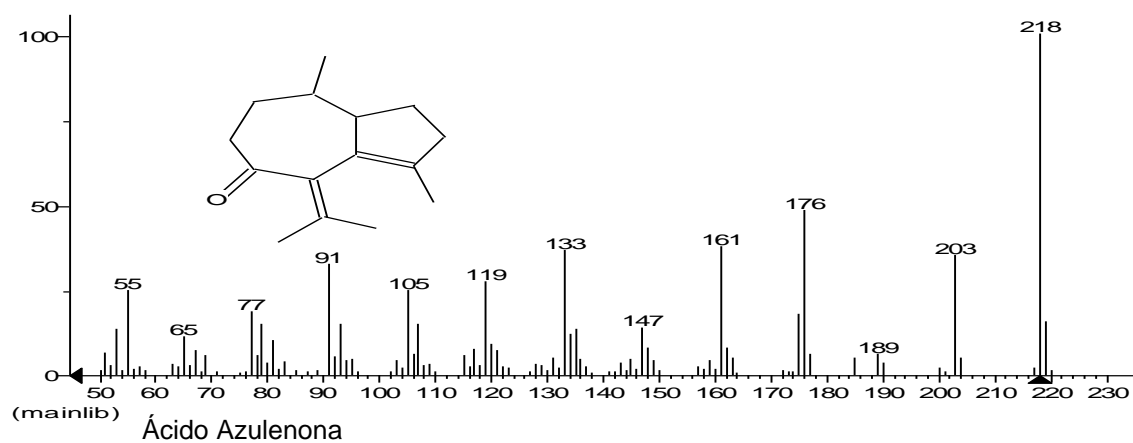
### MUESTRA DE PLASMA: Extracto de *Tapirira guianensis*



peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max	% of total
1	11.753	1581	1602	1639	M2	1432009	63339221	100.00%	53.957%
2	14.218	2022	2033	2046	M4	55904	1792946	2.83%	1.527%
3	14.389	2048	2063	2080	M3	113812	3614723	5.71%	3.079%
4	14.552	2080	2091	2102	M	46917	1355819	2.14%	1.155%
5	22.072	3387	3405	3413	M	359362	9061336	14.31%	7.719%
6	29.274	4623	4664	4683	M	570317	38223322	60.35%	32.562%

Pico 1:

Con un 79.1% de probabilidad

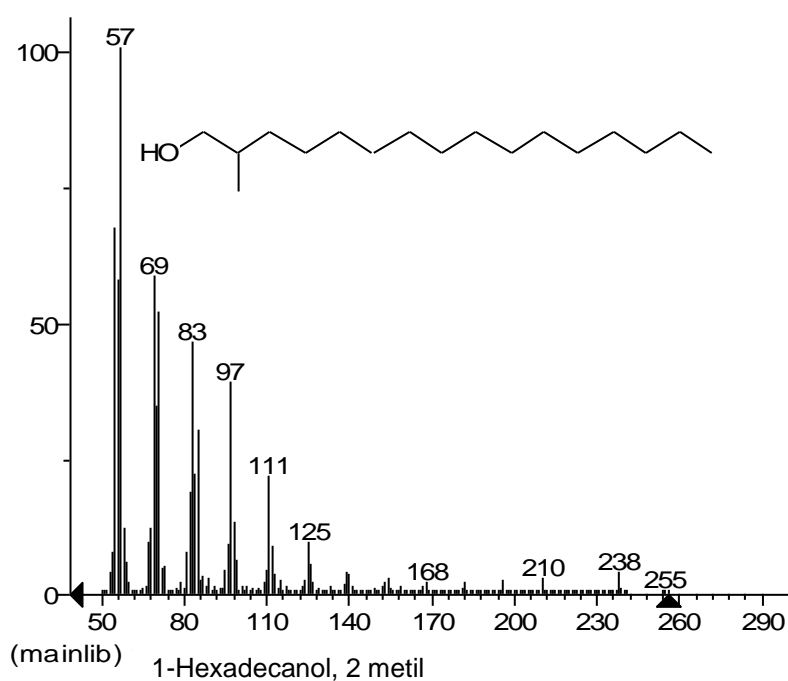


Sinónimos:

3,8-Dimetil-4-(1-methylethylidene)-2,4,6,7,8,8a-hexahidro-5(1H)-azulenone #

Pico2:

Con un 74.6% de probabilidad



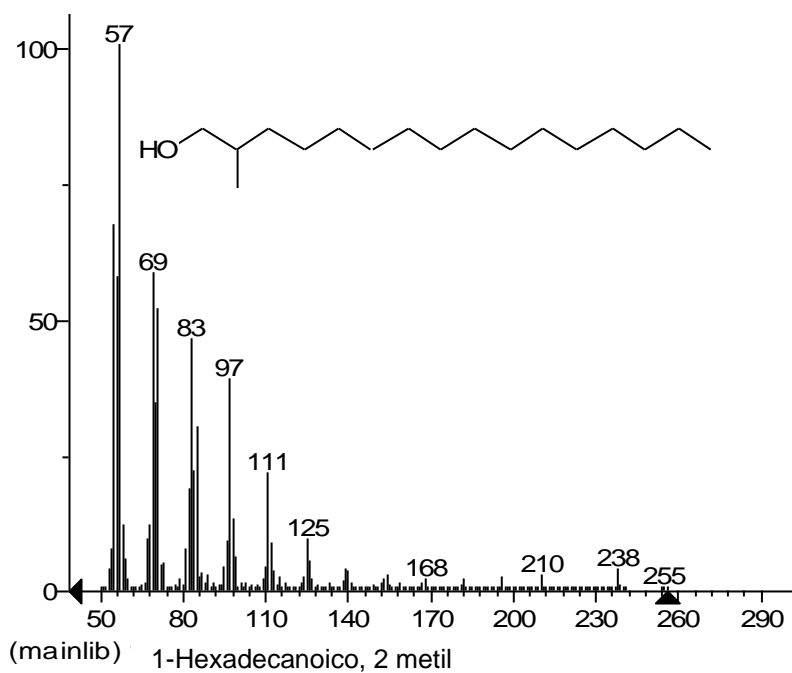
Sinónimos:

1.2-Metil-1-ol

2.2-Metil-1-hexadecanol #

Pico 3:

Con un 74.6% de probabilidad:

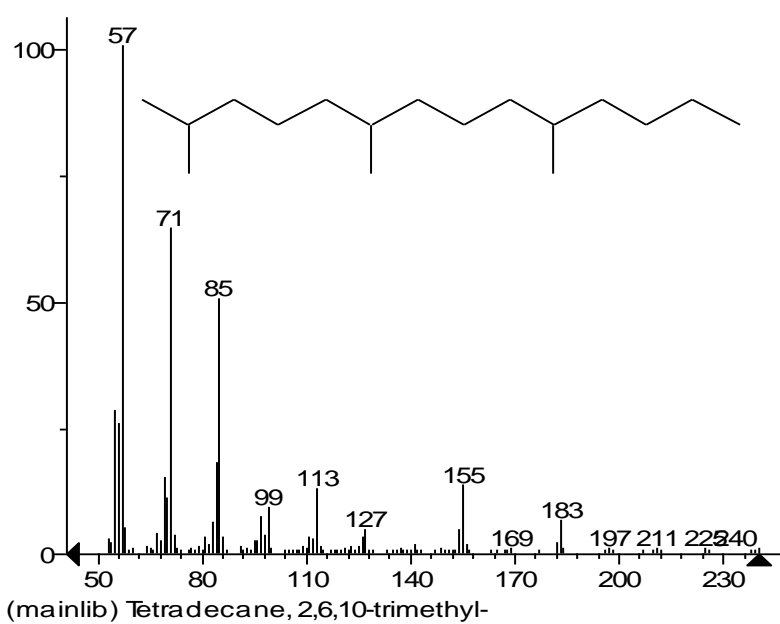


Sinónimos:

1.2-Methylhexadecan-1-ol

Pico 4:

Con un 81% de probabilidad:

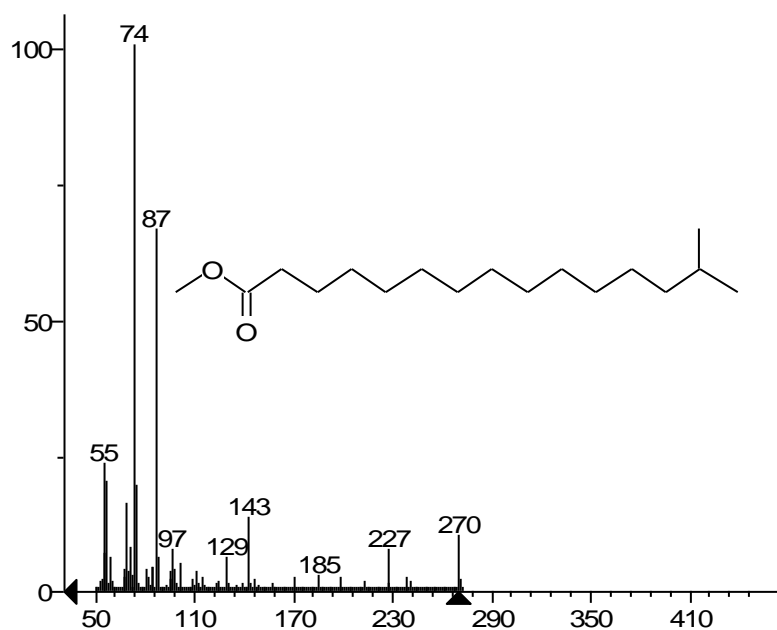


Sinónimos:

1.2,6,10-Trimethyltetradecane

Pico 5:

Con un 83% de probabilidad:

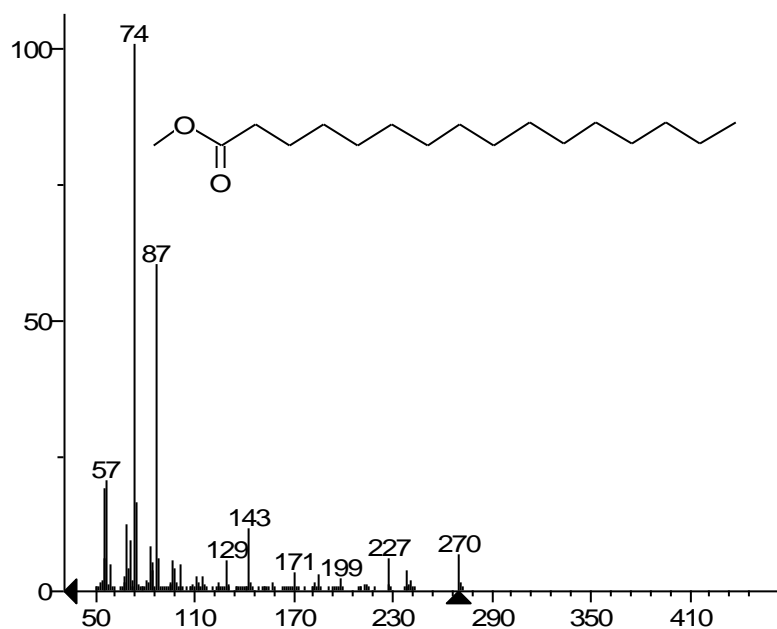


(replib) Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester

Sinónimos:

1.Methyl 14-methylpentadecanoate #

Con un 83.6% de probabilidad:



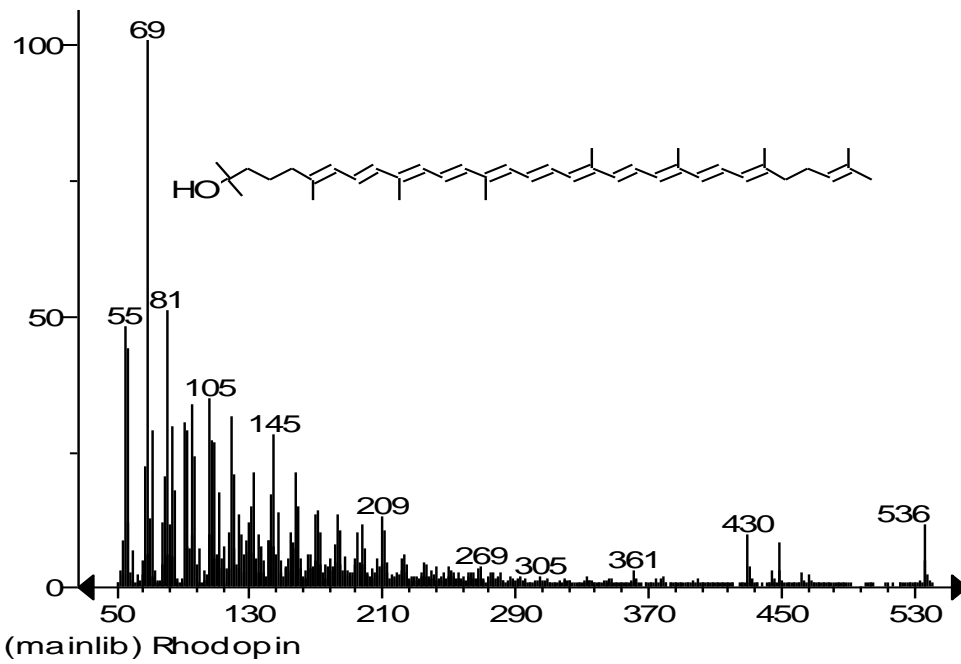
(replib) Hexadecanoic acid, methyl ester

Sinónimos:

1.Palmitic acid, methyl ester  
2.n-Hexadecanoic acid methyl ester

Pico 6:

✚ Con un 68.4% de probabilidad:



Sinónimos:

- 1..psi.,.psi.-Carotene, 1,2-dihydro-1-hydroxy-
- 2.Lycopene, 1,2-dihydro-1-hydroxy-