

FITOICA

Revista Científica
de Productos Naturales

ISSN 2077-1533

Año 4

Número 2

Mayo - Agosto

1999

ICA - PERU

FITOICA

Revista Científica

Productos Naturales

Director

Dr. Artemio Chang Canales

Presidenta del Comité Editorial

Dra. Silvia Klinar Barbuza

© Derechos Reservados a nombre de Artemio Chang Canales.

Representante Legal: Dr. Artemio Chang Canales.

Prohibida la reproducción parcial o total, sin previo consentimiento.

Presentación

Considerando la importancia de difundir la información científica y/o tecnológica que se genera en los trabajos de Tesis, hemos decidido incorporar los mencionados trabajos en FITOICA.

En este número presentamos “Evaluación de la Actividad Antioxidante de Dieciséis Plantas Medicinales de Ica” Tesis que elaboraron Mirian Acuache, Rosario Chi y Clarita Miranda, para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico, en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga, asesorado por los docentes de dicha facultad: Artemio Chang y Silvia Klinar.

Evaluación de la Actividad Antioxidante de Dieciséis Plantas Medicinales de Ica*

M. Acuache, R. Chi, C. Miranda. Asesores: S. Klinar, A. Chang

* Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo está enmarcado en el Proyecto Fitofarmacopea de Ica desarrollado en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica ^(1,2,3,4,5,6,7,8,10,12,13,14)

La citotoxicidad del oxígeno y las patologías asociadas al stress oxidativo son hoy en día temas de actualidad; por cuanto se conoce que en el organismo humano se generan normalmente intermediarios del oxígeno con alta reactividad, capaces de producir daño en la estructura y función celular (lipoperoxidación, mutaciones del ADN, etc.).

Es lógico pensar que la mejor manera de evitar el daño derivado del stress oxidativo es impedir que se forme una cantidad excesiva de radicales libres o destruir este exceso, acción que desarrollan las sustancias denominadas antioxidantes las que actúan por dos mecanismos: Inhibiendo a las enzimas que catalizan la formación de especies reactivas oxidantes o actuando directamente sobre estas especies.

La presencia de compuestos con actividad antioxidante en diversas plantas, así como los efectos tóxicos que acompañan al uso de antioxidantes sintéticos hacen interesante la búsqueda de compuestos naturales con posible actividad antioxidante.

En el presente trabajo se ha evaluado la actividad antioxidante de dieciséis plantas medicinales de Ica. Mediante ensayos preliminares, clasificamos a las especies que poseen mayor actividad antioxidante; seguidamente se realizó el Screening Fitoquímico en cada una de las especies y se evaluó la actividad antioxidante en cada fracción mediante el ensayo in vitro de inhibición a la enzima Polifenoloxidasas.

La técnica empleada en la determinación de actividad antioxidante es la misma que se viene utilizando en el Laboratorio de Productos Naturales, y que se establece por comparación con la vitamina C.

Consideramos que este aporte debe ser útil para futuras investigaciones destinadas a aislar e identificar los compuestos de mayor actividad biológica como protectores contra las patologías que involucra el stress oxidativo.

GENERALIDADES

Oxidación en Sistemas Biológicos

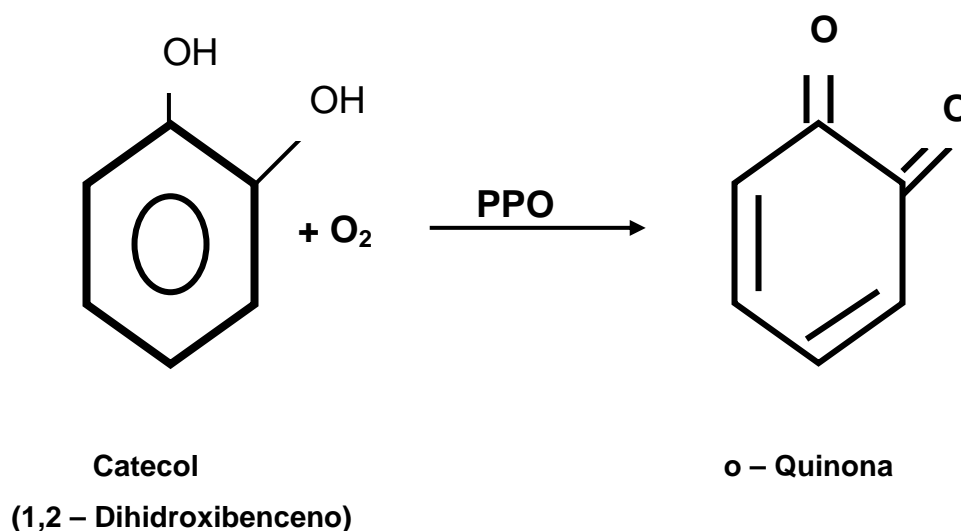
En los últimos años las investigaciones desarrolladas demuestran que tanto en el medio intracelular como extracelular se forman constantemente formas de transición del oxígeno. Existen algunas enzimas que pueden realizar la reducción del oxígeno en una sola etapa; esta reducción puede darse también a través de varios pasos de transferencia de electrones, generándose intermediarios tales como el radical superóxido (O_2^*), Peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical hidroxilo (OH^*); los cuales pueden reaccionar entre ellos mismos o con estructuras celulares que encuentren en su camino al tratar de aparear sus electrones; siendo las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos fácil blanco de su reactividad.

Las fuentes internas principales de especies reactivas son las mitocondrias, peroxisomas, fagocitosis, isquemia y otros. Entre las fuentes externas tenemos la contaminación ambiental, radiación ionizante, luz ultravioleta, solventes industriales y ciertas drogas reactivas.

Como señalamos inicialmente los procesos oxidativos son catalizados por enzimas; entre ellas tenemos a las Flavoproteínas (L – amino oxidasa, xantino oxidasa, aldehído deshidrogenasa, glucosa oxidasa), Citocromooxidasa, Fenolasas (tirosina, polifenoloxidasas, catecol oxidasa)

La Polifenoloxidasas es una metalo enzima que contiene cobre y cataliza la oxidación aeróbica de los orto – difenoles.

Oxidación de Ortodifenoles



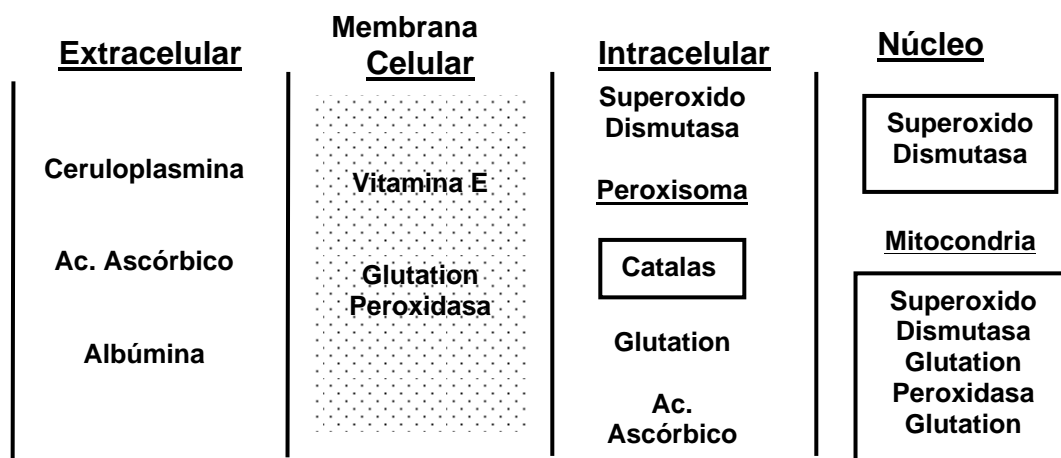
Sistema de Defensa Intracelular

El rol de las enzimas Superóxido Dismutasa (SOD) y Catalasa (CAT) constituyen un sistema antioxidante capaz de destruir al radical superóxido (SOD) o impedir la formación del radical hidroxilo (CAT). La enzima glutatión peroxidasa (GSH – Px) al formar una cadena enzimática con la enzima Glutatión reductasa (GSH – R) y Glucosa – 6 – fosfo deshidrogenasa constituye un sistema de detoxificación ya que metaboliza peróxidos.

Las membranas celulares estarían protegidas por α tocoferol (vitamina E) de cuyos isómeros la forma γ es la más activa .

En el medio extracelular no actúan las moléculas ya descritas, se ha identificado un importante número de macromoléculas como la ceruloplasmina, transferrina y albúmina.

Cuando en el organismo se produce un desbalance entre sustancias prooxidantes y antioxidantes con predominio de los oxidantes, resulta el stress oxidativo que representa un problema para la vida por cuanto ocasiona enfermedades que pueden ser letales.



Mecanismos de Protección extra e intracelulares contra el Stress Oxidativo.

Actividad Antioxidante

Antioxidantes

Se define como antioxidantes a todas aquellas sustancias capaces de inhibir, neutralizar o disminuir la concentración de las especies oxidantes reactivas generadas en el metabolismo humano y que causan diferentes patologías.

La actividad antioxidante ocurre por dos mecanismos:

- Por acción directa sobre la especie reactiva
- Por inhibición de las enzimas que intervienen en el proceso de formación de especies reactivas.

Clases de Antioxidantes

Antioxidantes Primarios

Son los que actúan previniendo la formación de especies reactivas de oxígeno, haciendo las moléculas menos perjudiciales no siendo capaces de iniciar por sí mismas la formación de nuevos radicales.

En este grupo destacan los antioxidantes endógenos.

Antioxidantes Secundarios

Denominados también interruptores de cadena, ya que capturan los radicales libres y evitan las reacciones en cadena.

Los principales antioxidantes secundarios son la vitamina C, vitamina E y β - caroteno.

Especies Vegetales

La actividad antioxidante ha sido evaluada en dieciséis plantas pertenecientes a la flora medicinal Iqueña que a continuación presentamos:

Acacia macracantha H.et.B (Huarango), Argemone mexicana (Cardo Santo), Arundo donax (Caña), Cichorium intybus L. (Achicoria), Ficus carica L. (Higo), Gossypium barbadense L. (Algodón), Helianthus annus L. (Girasol), Inga feuillei D.C (Pacae), Ipomea batata (Camote), Persea americana M. (Palta), Plantago major L. (Llantén), Portulaca olearacea L. (Verdolaga), Púnica granatum L. (Granada), Salix chilensis M. (Sauce), Spondia purpurea (Ciruela), Tamarindus indica L. (Tamarindo).

De las especies estudiadas dieron resultado positivo a la actividad antioxidante las siguientes especies: Cichorium intybus L. (Achicoria), Helianthus annus L. (Girasol), Ipomea batata (Camote), Persea americana M. (Palta), Púnica granatum L. (Granada), Spondia purpurea (Ciruela), Tamarindus indica L. (Tamarindo).

Cichorium intybus L. Achicoria

Breve descripción

Son plantas herbáceas de tallos angulares, erectos, de escasas hojas largas, penninervadas, con nervadura central, pronunciadas. Flores en capítulo color blanco; a veces medio azuladas. Florece en verano, habita en los cauces de riego.

Usos en la Medicina Tradicional

En afecciones del hígado se emplea las hojas frescas para preparación de bebidas. En estreñimiento se emplea las raíces tostadas como bebida. En afecciones renales, infusión de hojas y raíces.

Helianthus annus L. Girasol

Breve descripción

Es una planta de tallo herbáceo, erecto, que es cultivada en los jardines. Presenta hojas anchas, triangulares acorazonadas, de disposición alterna y opuesta, ásperas. Presenta inflorescencia en cabezuela ancha con numerosas flores de color amarillo que guían en dirección al sol; los frutos son ovoides planos de 2 cm aproximadamente, color negrusco, florece en verano.

Usos en la Medicina Tradicional

En dolores reumáticos se emplea el aceite extraído de las semillas como frotación, también el conocimiento de las hojas es empleado en baños calientes.

En afecciones bronquiales y resfrío; infusión de pétalos.

Ipomea batata L. Camote.**Breve descripción**

Planta herbácea de tallo purpúreo y/o verde, con raíz tuberizada que acumula gran cantidad de fécula y azúcares. Presenta hojas simples, palmatipartidas de disposición alterna con venación palmatinervada, con peciolo largo y con estípulas. Presenta flores acampanuladas de color violeta.

Usos en la Medicina Tradicional

En equimosis y en edema, se emplean las hojas como emplastos.

Es abortivo especialmente en animales, la ingestión de la planta.

Persea americana M. Palta.**Breve descripción**

Árbol de color verde con hojas lanceoladas de disposición opuesta con venación penninervada, de flores amarillas. El fruto es una pera gruesa larga, de mesocarpo blanquecino, mantecoso y suave.

Usos en la Medicina Tradicional

En diarreas, en disentería y en anuria, se emplean las semillas para preparación de bebidas.

En caída de cabello y caspa local, se emplea la pulpa del fruto en la frotación del cuero cabelludo.

Púnica granatum L. Granada.**Breve descripción**

Planta arbustiva, cultivada, las ramas son espinosas, con hojas cortas pecioladas, lustrosas y brillantes; sus flores son casi sentadas con cáliz de color rojo, duro y coriáceo, en forma de copa profunda, con cinco o más lóbulos. El fruto tiene diversas celditas separadas con tabiques membranosos, las semillas presentan cubierta roja y carnosa.

Usos en la Medicina Tradicional

En parasitosis, se utiliza el cocimiento de la corteza de la raíz macerado y calentado.

En otitis, lavados con cocimiento de la corteza de la raíz.

En diarrea y disentería, cocimiento de la cascara de granada (fruto)

Como sedante uterino (antiabortivo), cocimiento de granada.

Spondia purpurea Ciruela roja.

Breve descripción

Árbol de tallo leñoso, hojas compuestas de disposición alterna y foliolos lanceolados, de venación penninervada. Presenta flores pequeñas sésiles de color rojo, el fruto es una drupa de color rojo naranja denominada spondia (ciruela).

Usos en la Medicina Tradicional

En heridas ulcerosas, se emplea toques del látex de la corteza del tronco.

En indigestión, se utiliza el cocimiento del fruto (laxante de niños).

Tamarindus indica L Tamarindo.

Breve descripción

Es una planta cultivada, tiene hojas bipennadas, compuestas y esparcidas, inflorescencia en racimo, los frutos son legumbres grandes, carnosas, (resinoso) de sabor agridulce.

Usos en la medicina tradicional

En estreñimiento, (actúa como catártico) se utiliza infusión o cocimiento de la pulpa de tamarindo.

En anemia, en debilidad, jarabe preparado a partir de los frutos.

MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS

Muestra

Se eligió como muestra dieciséis plantas de la Medicina Tradicional Iqueña, de las cuales se utilizaron las hojas, siguiendo dos parámetros:

- ❖ Los metabolitos secundarios con actividad antioxidante: Flavonoides, se encuentran preferentemente en las hojas y flores.

- ❖ Las hojas suelen emplearse con frecuencia en la Medicina Tradicional.
 - ❖ *Acacia macracantha* H.et.B (Huarango)
 - ❖ *Argemone mexicana* (Cardo Santo)
 - ❖ *Arundo donax* (Caña)
 - ❖ *Cichorium intybus* L. (Achicoria)
 - ❖ *Ficus carica* L. (Higo)
 - ❖ *Gossypium barbadense* L. (Algodón)
 - ❖ *Helianthus annuus* L. (Girasol)
 - ❖ *Inga feuillei* D.C (Pacae)
 - ❖ *Ipomea batata* (Camote)
 - ❖ *Persea americana* M. (Palta)
 - ❖ *Plantago major* L. (Llantén)
 - ❖ *Portulaca olearacea* L. (Verdolaga)
 - ❖ *Púnica granatum* L. (Granada)
 - ❖ *Salix chilensis* M. (Sauce)
 - ❖ *Spondia purpurea* (Ciruela)
 - ❖ *Tamarindus indica* L. (Tamarindo)

Recolección de las Especies Vegetales

Las hojas de las especies en estudio fueron recolectadas y limpiadas cuidadosamente evitando maltratar su superficie, se secaron bajo sombra y a temperatura ambiente hasta que adquirieron las condiciones adecuadas para la molienda.

Experimental

Evaluación Preliminar

Las especies vegetales en estudio fueron sometidas a una evaluación preliminar de su actividad antioxidante; de las cuales siete resultaron con actividad antioxidante.

Screening Fitoquímico

Las especies vegetales que dieron resultados positivos en el ensayo de actividad antioxidante fueron seleccionadas para la detección de metabolitos secundarios.

10 gr. del material seco y molido se maceran con etanol 48 horas y se extrae por reflujo durante 8 horas, se filtra en caliente y lleva a un volumen final de 25 ml, separando 5 ml del extracto etanólico lo que constituye la **Fracción Etanólica: F - A** (Ensayo de taninos y grupos fenólicos libres).

Los 20 ml restantes se secan a presión y temperatura reducida, el extracto seco se extrae con Ácido Clorhídrico 2% (v/v) a 50 °C. se filtra, el insoluble se lava con agua destilada y se disuelve con diclorometano en caliente y lleva a un volumen final de 5 ml lo que constituye la **Fracción Diclorometánica: F - B** (Ensayo de triterpenoides – esteroides y antraquinonas)

La solución ácida se neutraliza con NaOH 20 % y se extrae con dos porciones de diclorometano, se filtra sobre sulfato de sodio anhidro y lleva a un volumen final de 5 ml constituyendo la **Fracción Diclorometánica: F - C** (Ensayo de triterpenoides- esteroides y alcaloides)

A la fase acuosa se le agrega NaCl, se extrae con dos porciones de diclorometano-etanol (3:2) se filtra sobre sulfato de sodio anhidro y llevan a un volumen final de 5 ml; constituyendo la **Fracción Diclorometano-etanol: F - D** (Ensayo de triterpenoides – esteroides, alcaloides, leucoantocianidinas – catequinas y flavonoides)

La solución acuosa restante se lleva a un volumen final de 5 ml y constituye la **Fracción Acuosa: F – E** (Ensayos de leucoantocianidinas – catequinas y flavonoides.)

1 gr. de la muestra seca y molida se extrae con agua por ebullición, se filtra y lleva a un volumen final de 5ml constituyendo la **Fracción Acuosa. F – F** (Ensayo de saponinas)

Evaluación de la Actividad Antioxidante

Preparación de la Muestra

La evaluación de la actividad antioxidante fue realizada en las soluciones preparadas a diferentes concentraciones a partir de las fracciones obtenidas en el Screening.

Reactivos

Catecol:

Nombre Químico	:	1,2 – Bencenodiol, Dihidroxibenceno
Fórmula	:	$C_6H_4 - 1,2 - (OH)_2$
Pureza	:	99.7%
Estado Físico	:	Sólido.

Vitamina C:

Nombre Químico: Ácido Ascórbico, ácido cevitámico, L – 3 cetogulofuranolactona (forma enólica), ácido l - xiloascórbico.

Presentación : Cristales

Pureza : Q. P

Polifenoloxidas (PPO): Se obtuvo a partir del extracto de manzana.(variedad Delicia)

Dimetilsulfóxido (DMSO):

Disolvente :	Orgánico
Fórmula :	$(CH_3)_2SO$
Pureza :	99.9%

Preparación de Reactivos

Amortiguador

Se prepara una solución acuosa que contenga 20 mM de acetato de sodio y 20 mM de ácido acético (pH 5)

Dilución del Extracto Enzimático (PPO)

La pulpa de manzana se licua con el amortiguador, el homogenizado se centrifuga a 4000 rpm durante 20 minutos, se separa el sobrenadante y el líquido filtrado se refrigera.

A partir del líquido filtrado se prepara las solución de Polifenoloxidas al 20%.

Sustrato (Catecol)

Se prepara una solución 0.05 mM de catecol diluída en el amortiguador.

Antioxidante Estándar (Vitamina “C”)

Se preparan las soluciones acuosas de ácido ascórbico a partir de los cristales de vitamina C a las concentraciones siguientes: 10, 30, 50 ,60, 70, 80, 90, 100 ug/ml.

Descripción de la Técnica

En la determinación de la capacidad antioxidante in vitro se empleó la enzima Polifenoloxidasa (PPO) la cual actúa sobre el catecol oxidándolo a o-benzoquinona que absorbe en el espectrofotómetro UV-vis a 420 nm haciendo posible medir la cantidad de o-benzoquinona producida en la reacción. Seguidamente diferentes concentraciones de la muestra son agregadas y se mide la cantidad de o-benzoquinona formada, si disminuye la producción de quinona indica que la muestra tiene la capacidad de inhibir a la enzima (PPO).

El mismo procedimiento se emplea con la vitamina C en lugar de la muestra, comparando la actividad antioxidante de las muestras con el estándar.

Preparación de la Mezcla Para la Lectura

- **Blanco** : 1,7 ml de amortiguador
1 ml de solución de PPO
- **Muestra** : 1,4 ml de amortiguador
1 ml de solución de PPO (20%)
0.3 ml de muestra
- **Estándar** : 1,4 ml de amortiguador
1 ml de solución de PPO
0.3 ml de Solución de Vitamina C

Lectura

El espectrofotómetro Beckman DU-65 se calibra a 420 nm luego a cada solución a ensayar se le agrega 0,3 ml de catecol (0.05 M) e inmediatamente se toma la lectura cada 10 segundos durante 1 minuto.

RESULTADOS

Cuadro N° 1.- Resultados de la Evaluación Preliminar de la Capacidad Antioxidante de los Extractos Etanólicos de las Hojas

N°	Muestra	Nombre Botánico	Resultado
01	Huarango	Acacia macracantha H. et. B	Negativo
02	Cardo Santo	Argemone mexicana	Negativo
03	Caña	Arundo donax	Negativo
04	Achicoria	Cichorium intybus L.	Positivo
05	Higuera	Ficus carica L.	Negativo
06	Algodón	Gossypium barbadense L.	Negativo
07	Girasol	Helianthus annus L.	Positivo
08	Pacae	Inga feuillei D.C	Negativo
09	Camote	Ipomea batata	Positivo
10	Palta	Persea americana M.	Positivo
11	Llantén	Plantago major L.	Negativo
12	Verdolaga	Portulaca olearacea L.	Negativo
13	Granada	Púnica granatum L.	Positivo
14	Sauce	Salix chilensis M.	Negativo
15	Ciruela	Spondia purpurea	Positivo
16	Tamarindo	Tamarindus indica L.	Positivo

Cuadro N° 2.- Resultados del Screening Fitoquímico de las Especies Clasificadas

Nombre Botánico Ensayos	C. intybus	H. annus	I. batata	P. americana	P. granatum	S. purpurea	T. indica
Taninos	-	+	-	+	+	+	+
Grupos Fenólicos Libres	+	+	+	+	+	+	+
Triterpenoides Esteroides	+	+	+	+	+	+	+
Antraquinonas	-	-	-	-	-	-	-
Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-
Leucoantocianidinas Catequinas	+	-	-	-	-	+	+
Flavonoides	+	+	+	+	+	+	+
Saponinas	+	+	-	-	+	+	-

Cuadro N° 3.- Resultados de la Evaluación antioxidante en las Fracciones del Screening

Especies	Fracciones					
	F - A Etanólica	F - B Diclorometánica	F - C Diclorometánica	F - D Dilometánica Etanólica	F - E Acuosa	F - F Acuosa
C. intybus	+	-	-	+	+	-
H. annus	+	-	+	+	+	-
I. batata	+	-	-	-	+	-
P. americana	+	-	-	+	+	-
P. granatum	+	-	+	-	-	-
S. purpurea	+	+	-	-	+	+
T. indica	+	-	+	+	-	+

Producción de Quinonas de las Fracciones con Actividad Antioxidante

N°	Nombre Botánico	Fracción	PRODUCCIÓN DE QUINONA en absorbancia x 1000				
			10ug/ ml	30ug/ml	50ug/ ml	80ug/m	100ug/m
01	C. intybus	F – A	63.3	60.1	57.8	52.2	48.8
		F – D	25.0	24.9	24.8	21.2	19.2
		F – E	21.6	17.8	12.8	12.3	11.4
02	H. annus	F – A	93.8	85.9	77.6	68.4	64.2
		F – C	34.0	33.1	32.6	29.9	28.2
		F – D	36.4	35.4	34.4	33.2	32.4
		F – E	25.8	23.4	21.0	17.7	15.4
03	I. batata	F – A	65.0	64.6	63.0	59.8	56.0
		F – E	32.4	29.2	25.6	22.4	20.0
04	P. americana	F – A	63.4	59.5	57.8	55.3	54.6
		F – D	29.8	28.7	28.6	23.0	19.8
		F – E	22.8	18.0	11.6	11.3	10.2
05	P. granatum	F – A	60.4	59.3	57.8	55.6	54.4
		F – C	84.6	78.4	74.6	55.7	44.2
06	S. purpurea	F – A	51.6	48.4	45.1	40.2	37.0
		F – B	27.4	25.1	22.4	20.3	18.8
		F – E	15.4	13.0	10.2	8.7	7.4
		F – F	40.8	39.2	37.4	35.6	34.4
07	T. indica	F – A	68.6	65.1	63.6	61.4	60.0
		F – C	40.0	34.8	27.8	27.1	25.8
		F – D	32.2	30.2	27.8	26.7	25.8
		F – F	88.2	80.9	72.4	66.5	64.0

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

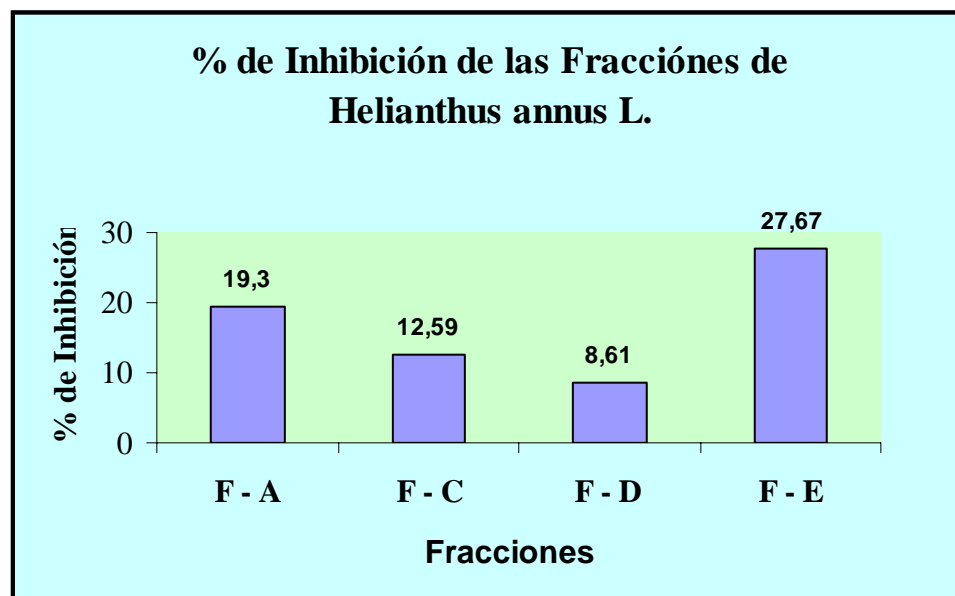
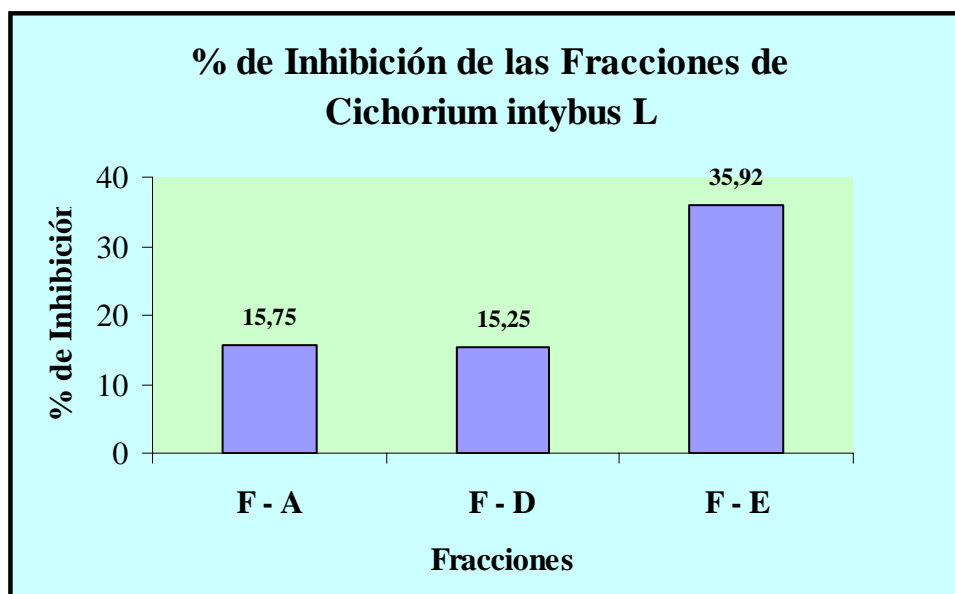
Determinación del % de inhibición a la enzima PPO de las Fracciones con Actividad Antioxidante

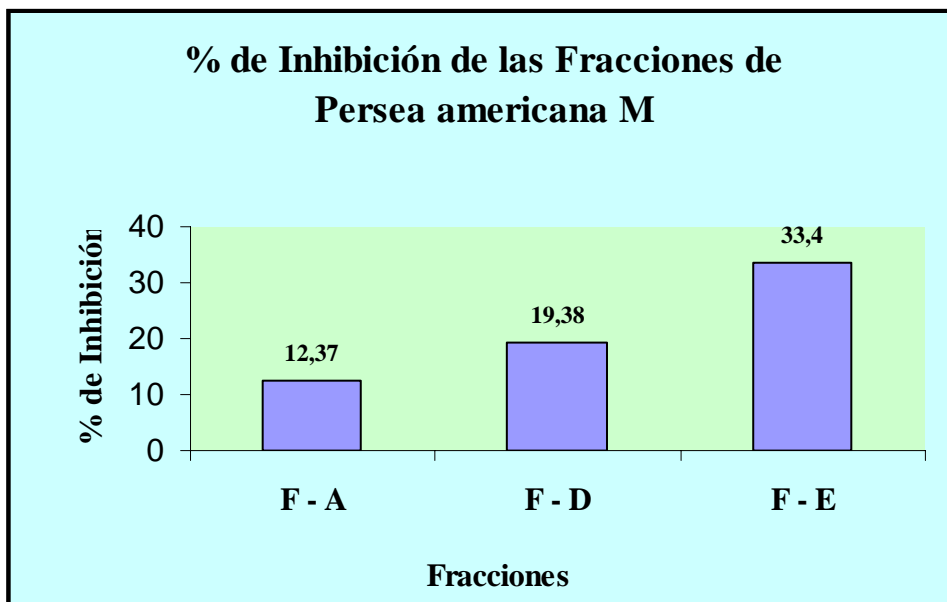
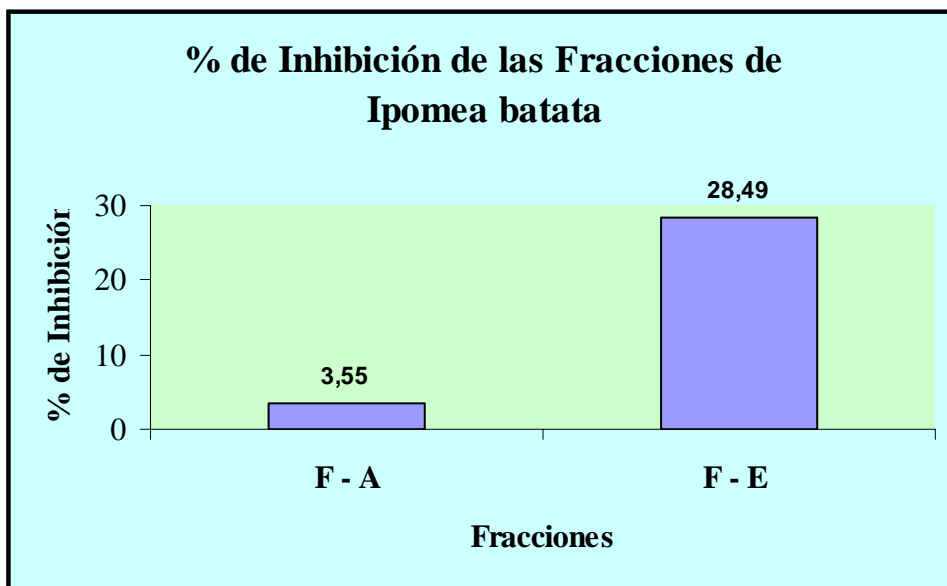
Las fracciones con actividad antioxidante inhiben la actividad de la Polifenoloxidasa para oxidar el catecol originándose una disminución en la producción de quinonas. El porcentaje de dicha disminución es calculado tomando como referencia la lectura del Blanco como el 100% de la producción de quinonas.

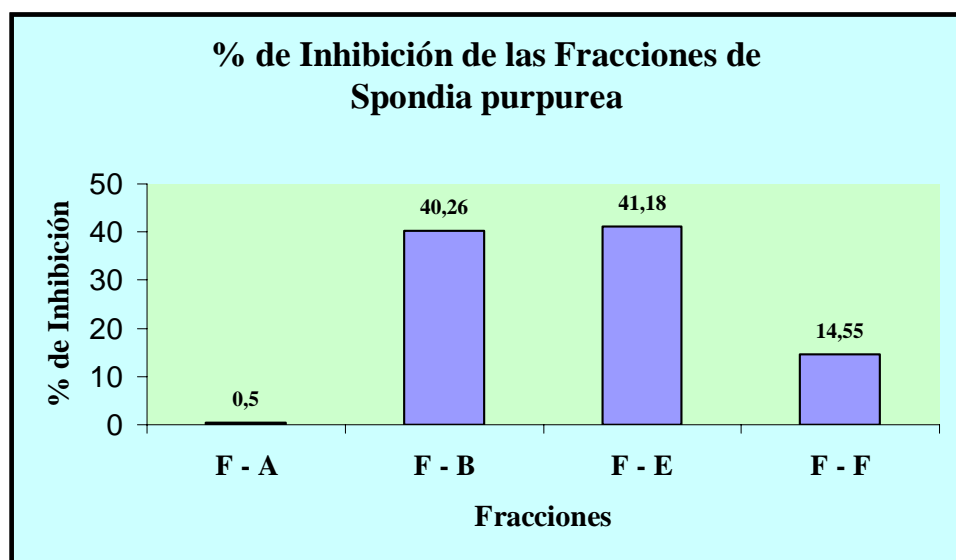
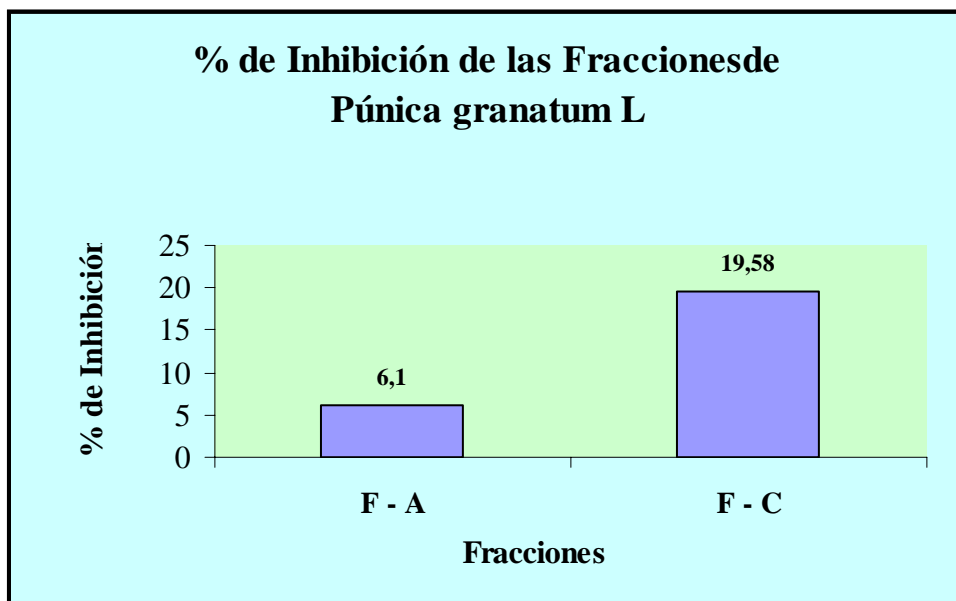
Porcentaje de Inhibición de la Actividad de la PPO de las Fracciones con Actividad Antioxidante

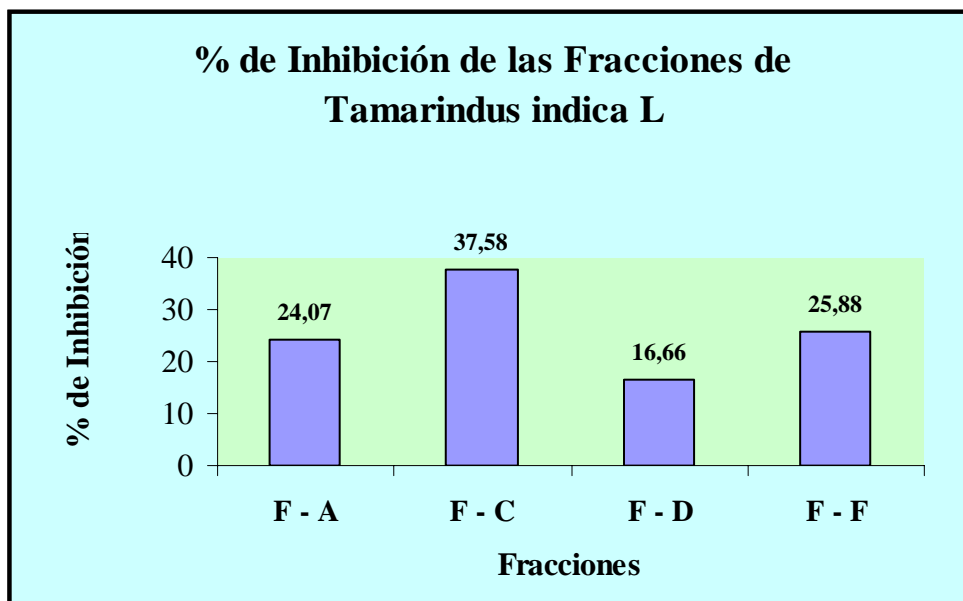
N°	Nombre Botánico	Fracción	% DE INHIBICIÓN en ug/ml				
			10	30	50	80	100
01	C. intybus	F - A	6.38	11.07	15.75	22.78	27.46
		F - D	5.56	10.40	15.25	22.52	27.37
		F - E	17.92	26.92	35.92	49.42	58.42
02	H. annus	F - A	5.11	12.2	19.3	30.0	37.1
		F - C	5.40	8.99	12.59	17.98	21.57
		F - D	3.92	6.26	8.61	12.12	14.47
		F - E	11.9	19.8	27.67	39.53	47.43
03	I. batata	F - A	0.50	0.61	3.55	7.95	10.89
		F - E	13.72	21.105	28.49	39.58	46.97
04	P. americana	F - A	7.16	9.77	12.37	16.28	18.88
		F - D	5.50	12.44	19.38	29.79	36.73
		F - E	9.85	21.62	33.40	51.06	62.83
05	P. granatum	F - A	1.24	3.67	6.10	9.75	12.18
		F - C	0	9.02	19.58	35.43	46.00
06	S. purpurea	F - A	0.4	0.45	0.5	3.73	11.53
		F - B	30.5	35.38	40.26	47.57	52.45
		F - E	22.95	32.06	41.18	54.85	63.96
		F - F	8.16	11.36	14.55	19.35	22.55
07	T. indica	F - A	20.51	22.29	24.07	26.75	28.53
		F - C	25.54	31.56	37.58	46.62	52.64
		F - D	8.59	12.62	16.66	22.71	26.75
		F - F	11.98	20.20	25.88	34.39	40.07

Comparación del Porcentaje de Inhibición de las Fracciones con Actividad Antioxidante en cada Especie Vegetal a concentraciones de 50 ug/ml.

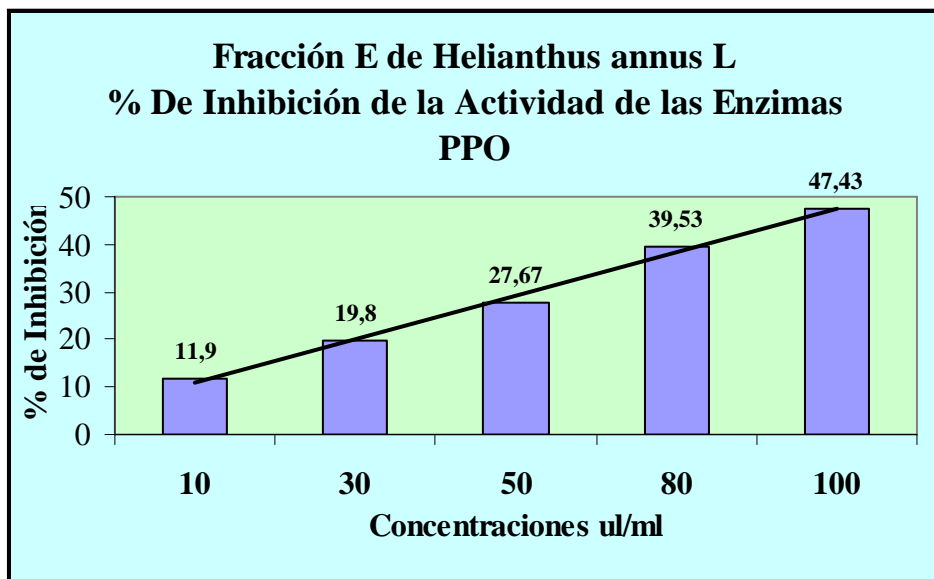
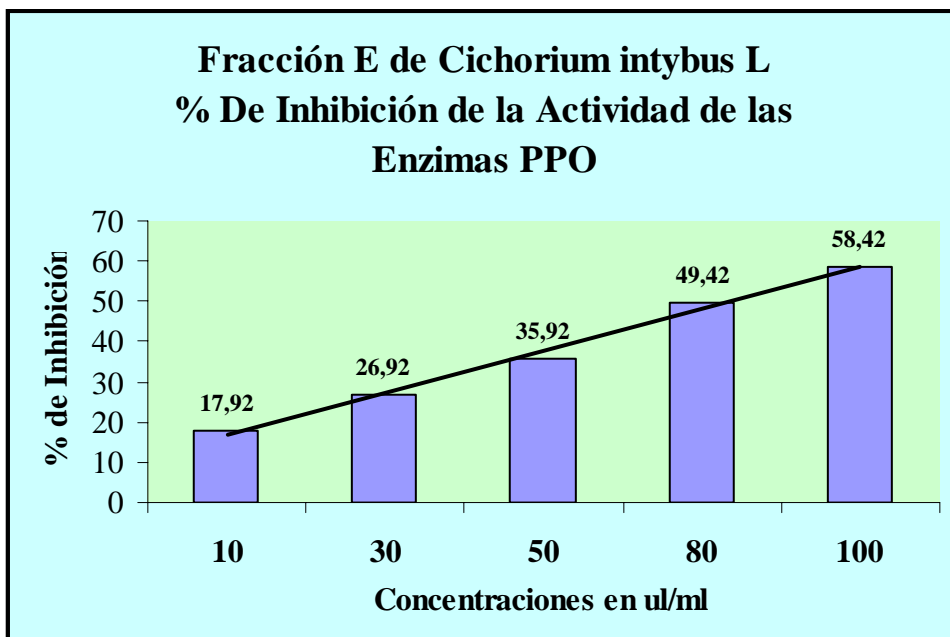


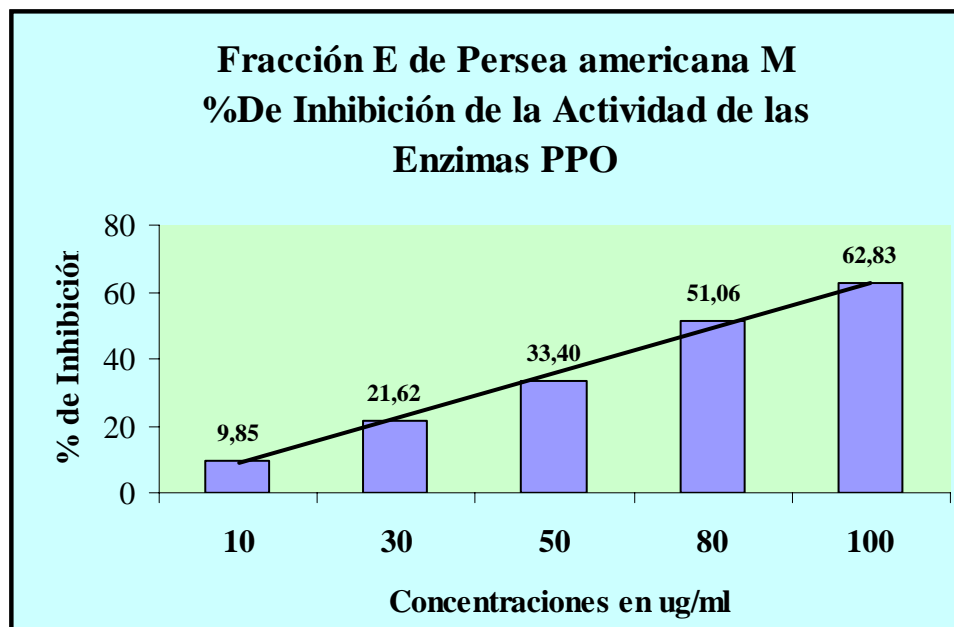
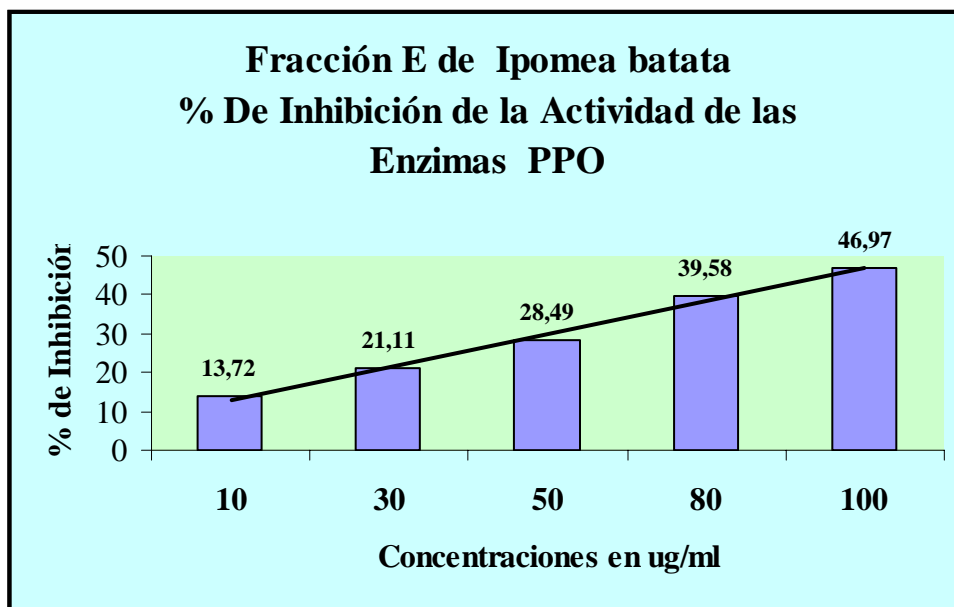


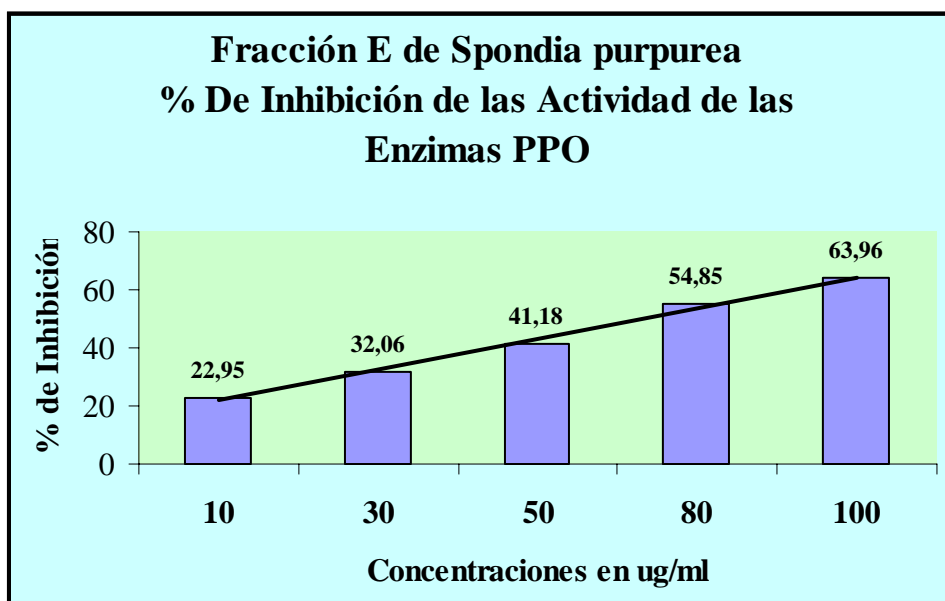
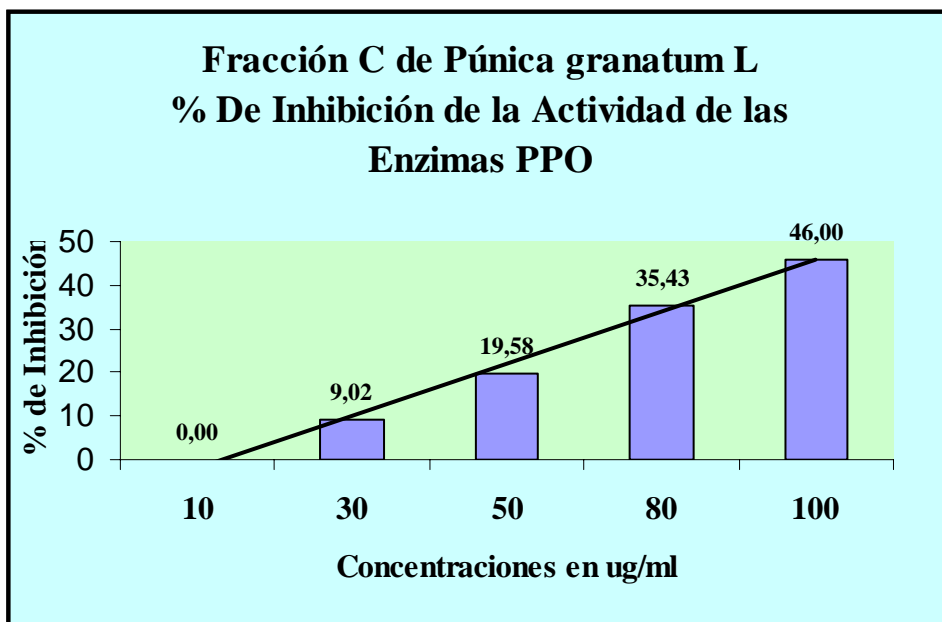


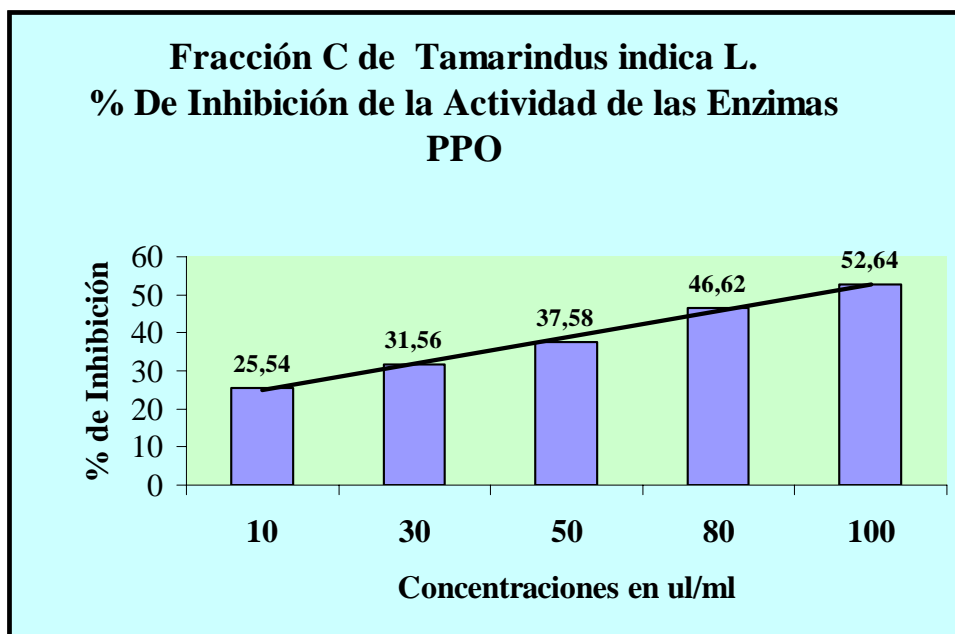


Porcentaje de Inhibición de la Actividad de la PPO de las Fracciones con mayor Actividad Antioxidante



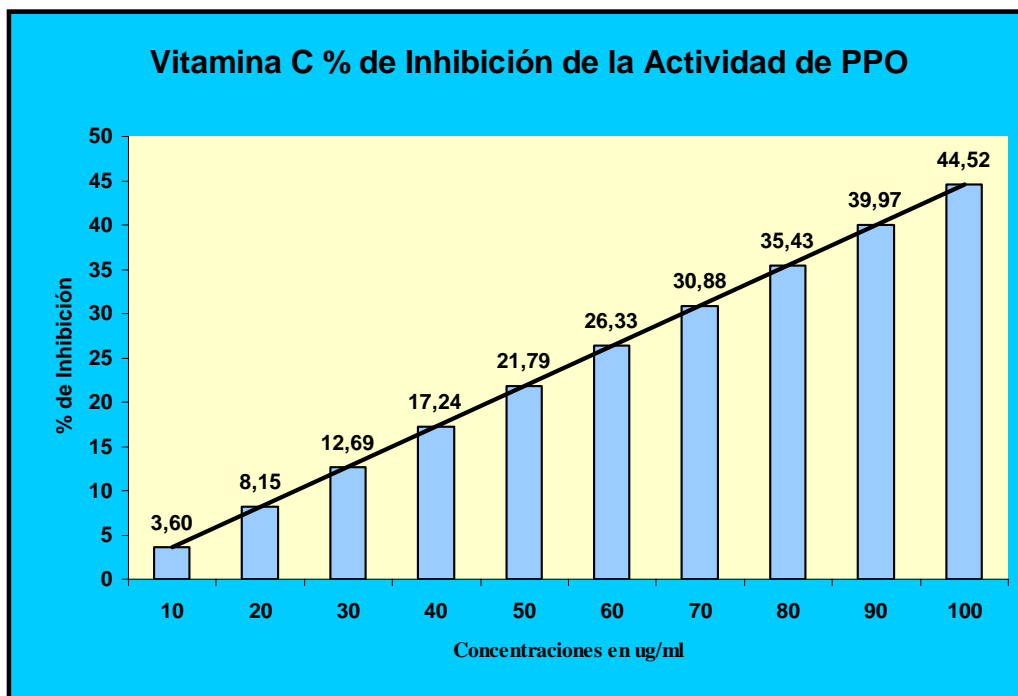






Porcentaje de Inhibición de la Polifenoloxidasa por el Estándar

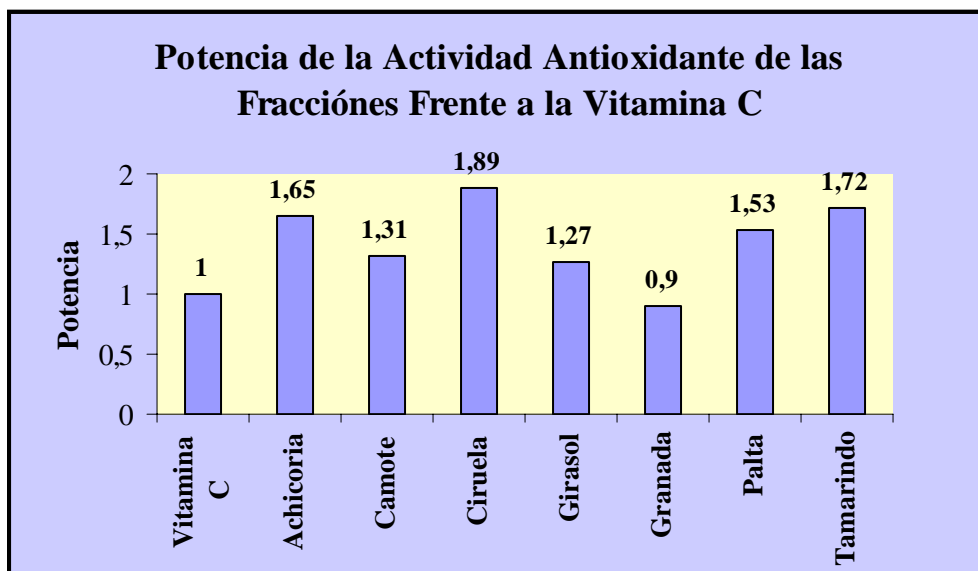
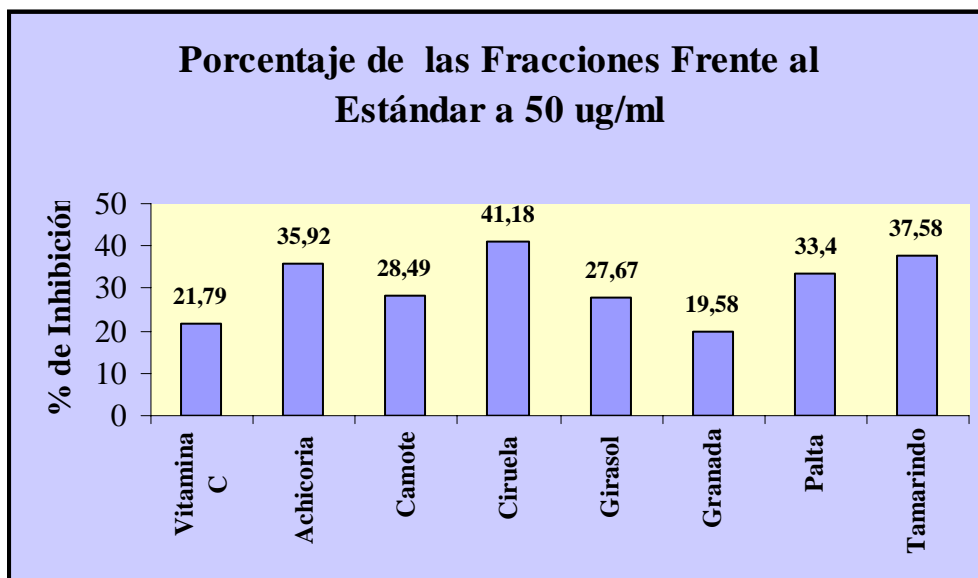
Concentración del Estándar ug/ml	% de Inhibición a la PPO
10	3.6
20	8.15
30	12.69
40	17.24
50	21.79
60	26.33
70	30.88
80	35.43
90	39.97
100	44.52



Determinación de la Potencia de la Actividad Antioxidante por comparación de las Fracciones Frente al Estándar

La Potencia de la actividad antioxidante de las fracciones se determina por comparación del % de inhibición a la polifenoloxidasasa a la misma concentraciones; en este caso se seleccionó la concentración a 50 ug/ml.

N°	Especie	Fracción	% de Inhibición a PPO 50 ug/ml	Potencia
01	C. intybus	E	35.92	1.65
02	H. annus	D	27.67	1.27
03	I. batata	E	28.49	1.31
04	P. americana	E	33.40	1.53
05	P. granatum	C	19.58	0.90
06	S. purpurea	E	41.18	1.89
07	T. indica	C	37.58	1.72
08	Vitamina C	–	21.79	1



CONCLUSIONES

1. Se ha evaluado la actividad antioxidante de las hojas de dieciséis plantas medicinales de las cuales siete dieron resultados positivos:
 - ❖ *Spondia purpurea*
 - ❖ *Tamarindus indica* L
 - ❖ *Cichorium intybus* L
 - ❖ *Persea americana* M
 - ❖ *Ipomea batata*
 - ❖ *Helianthus annus* L
 - ❖ *Púnica granatum* L

2. En la Evaluación de la actividad antioxidante de las diferentes fracciones de cada especie las más activas resultaron:
 - ❖ *Spondia purpurea*. **F – E** (acuosa) que contiene Flavonoides y Catequinas.
 - ❖ *Tamarindus indica* L. **F – C** (Diclorometánica) que contiene Triterpenoides y Esteroides.
 - ❖ *Cichorium intybus* L. **F – E** (Acuosa) que contiene Flavonoides.
 - ❖ *Persea americana* M. **F – E** (Acuosa) que contiene Flavonoides.
 - ❖ *Ipomea batata*. **F – E** (Acuosa) que contiene Flavonoides.
 - ❖ *Helianthus annus* L. **F – E** (Acuosa) que contiene Flavonoides.
 - ❖ *Púnica granatum* L. **F – C** (Diclorometánica) que contiene Triterpenoides y Esteroides.

3. Al comparar la actividad antioxidante de las fracciones más activas de cada especie con la Vitamina C se encontró que seis de ellas son más potentes que dicho estándar:

Espece	Fracción	% de mayor Potencia que la Vitamina C
<i>Spondia purpurea</i>	F - E (Acuosa)	89 %
Tamarindus indica L	F – C (Diclorometánica)	72 %
Cichorium intybus L	F – E (Acuosa)	65 %
Persea americana M	F – E(Acuosa)	53 %
Ipomea batata	F – E(Acuosa)	31 %
Heliantus annus L	F – E (Acuosa)	27%

4. De la comparación anterior, sólo uno dió resultado de actividad antioxidante menor que la vitamina C:

La **F – C** de *Púnica granatum L*, que sólo presenta el 90% de la actividad antioxidante de la Vitamina C .

BIBLIOGRAFÍA

1. **CALDERON P y FLORES J.** (1987) "Plantas Terapéuticas de Ica" 1987, Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico, UNICA.
2. **CHANG A, KLINAR S, ET AL** (1987) Avances del catálogo de Plantas medicinales de Ica: Análisis de 10 especies. XV Congreso Peruano de Química.
3. **CHANG A, KLINAR S, CASTILLO P, LOCK O, DE LLE MONACHE y U HOLLSTEIN.** (1992).Análisis Espectroscópico de Productos Naturales Obtenidos de Plantas Medicinales de Ica. I Congreso Natural de Ciencias Farmacéuticas. VI Congreso Peruano de Farmacia.
4. **KLINAR S, CASTILLO P, CHANG A, SHMEDA G Y REYES S** (1993) Actividad Biológica de Plantas Medicinales de Ica. XVIII Congreso Peruano de Química. VI Congreso Peruano de Farmacia.
5. **KLINAR S, ET AL.** (1993) Actividad Biológica de Plantas de la Medicina Tradicional Iqueña. VI Congreso Peruano de Farmacia.
6. **CHANG A, KLINAR S, CASTILLO P.** (1993) Fitofarmacopea Tradicional de Ica. VI Congreso Peruano de farmacia.
7. **KLINAR S, CASTILLO P, CHANG A.** (1995) Detección de Flavonoides en Inflorescencia de *Waltheria ovata* (Lucraco) XIX. Congreso Peruano de Química. VII Congreso Peruano de Farmacia.
8. **CHANG A, KLINAR S,** (1997). Actividad Antioxidante de *Uncaria tomentosa* (Willd) D.C. VII Congreso Peruano de Farmacia.
9. **GAMBOA ABOADO RAUL,** Revista Médica, Vol. 2-14-15, 86-88.
10. **MURGA Z. GLADYS (1998)** Determinación de la Actividad Antioxidante en cinco plantas Medicinales de Ica, Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. UNICA
11. **CASAVILCA BULEJE MARTHA** (1998) Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. UNICA
12. **OLACHEA GONZALES AELA** (1998) Estudio Químico y Biológico de *Leucaena leucocephala* (lam de wit) Yaravisco. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. UNICA
13. **ALARCON HERNADEZ JESSICA.** (1998) Estudio Químico y Biológico de *Pluchea chingoyo* H.B.K. (Toñuz) Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. UNICA

14. **CONDEÑA RÍOS A y LUDEÑA CONTRERAS S** (1999) Evaluación de la Actividad Antioxidante de nueve plantas Medicinales de Ica. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. UNICA.
15. **SOUKOUPE J** (1970) Vocabulario de los Nombres Vulgares de Flores Peruanas. Colegio Salesiano. Lima. Perú.
16. **LOPEZ J** (1969) Botánica general. UNMSM. Lima. Perú
17. **MARENZI STOPPANI DEULOPEN** (1969) Química Biológica
18. **FONT QUER P** "Botánica Pintoresca". De Manuel Sopena, S.A España 1978.
19. **GROS EDUARDO G, POMILIO ALICIA B, SELDES ALICIA y BUSTON GERANDO** (1985) Introducción al Estudio de los Productos Naturales. Washington D.C.
20. **THOMAS J. M** (1987) Atlas de Botánica Jover. Barcelona. España.
21. **VIDAL J** (1984) Curso de Botánica. Stella. Buenos Aires. Argentina.
22. **PAGE, CURTIS, SUTTER, WALKER, HOFFMAN** (1998) Farmacología Integrada. Edición Española. Madrid. España.
23. **ALDECOA FRANKLIN** (1995) Revista Diagnóstico Vol. 34,29,33.
24. **MIROQUEZADA CANTURIAS OSCAR** (1996) "Buena Salud" N° 8 y 18
25. **BOVERIS ALBERTO, ET AL** (1997) Radicales Libres y Estados Excitados.
26. **SOTO VALDEZ HERLINDA y TREJO GONZALES AUGUSTO.** (1989) Aislamiento y Caracterización Parcial de la Enzima Fenoloxidasa de manzana. Centro de Investigación en alimentación y desarrollo. A.C. Hermosillo. Sonora. Mexico.
27. **TOREL JOSE, CILLARD JOSSIANE Y CILLARD PIERE.** Antioxidant Activity of Flavonoids and Reactivity with Peroxy Radical. Phytochemistry Vol. 23 N° 2 pp. 363 – 365. 1986
28. **MURRAY ROBERT, ET AL.** (1998) Bioquímica de Harper 1era. Edición.
29. **TURRENS JULIO F.** Revista N° 3. Antioxidantes y Calidad de Vida.
30. **BOHINSKI C. ROBERT** Bioquímica 5ta. Edición Española.
31. **STRAS BURGER ET. AL** (1997) "Tratados de Botánica". 6ta. Edición.
32. **FORT ASTE DIANA.** (1992) Marchas Fitoquímicas y Reacciones de Coloración. PUCP (Pontificia Universidad Católica del Perú).
33. **AYRES M. STEPHEN** (1996) Tratado de Medicina Crítica y Terapia Intensiva. Edit. Panamericana. 3era. Edición Argentina.
34. **MENDEZ J, RAMOS H.** (1987) "Sobre los Beneficios de los Radicales Libres. Revista Médica IMSS. Vol. 35. México.

35. **MUÑOS MENA y DEVORE G.** (1991) Química Orgánica. Publicaciones Cultural. S.A
36. **LOCK DE UGAZ OLGA.** (1998) "Investigación Fitoquímica" Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima.
37. **DOMINGUEZ A. XORGE.** (1993) Métodos de Investigación Fitoquímica. Edit. Linnusa. 1era Edición.
38. **ALIMENTOS PROCESADOS.** (1997) Antioxidantes – La más saludable alternativa. México.
39. **PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ.** Revista de Química. Vol. 1. Departamento de Ciencias. Fondo Editorial, Lima 1987.
40. **CHEFTEL JEAN CLAUDE.** Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos. Vol. 1.
41. **WEBERLING TODEO y SCHAWANTES HANS.** Botánica Sistemática.
42. **LOCK DE UGAZ OLGA, CHAVEZ RICARDO, PLAZA ALBERTO.** (1996) "Antioxidantes de Origen Vegetal". Revista Química 71 – 101.
43. **SCHMIDT HEBBEL** (1973) Ciencia y Tecnología de los Alimentos.
44. **FLURY THOMAS, KREUZ KLAUS y WAGNER EDGAR.** (1998) H₂O₂ Generation and the influence of Antioxidants during the 2,3,5 Triodobenzoic acid – mediated Induction of glutathione S-Transferase in soybean. Phytochemistry. Vol. 49 N° 1 pp. 37 - 41. 1998.
45. **SANCHEZ LOPEZ SANTIAGO** (1992) Aditivos para materiales de Plástico, Antioxidantes y Estabilizadores. Editorial Linnusa. 1era Edición. México.
46. **VALENZUELA ALFONZO y VIDELA LUIS.** (1989) Formas Activas del Oxígeno, Stress Oxidativo y su Proyección Patológica. Revista Médica de Chile.
47. **MED LINE.** Base de Datos del Centro de Computo de la UPCH. Revisión desde el año 1997 – 1999.