



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA DE QUÍMICA Y FARMACIA



**MODALIDAD: INVESTIGACIÓN**

TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO  
PREVIO PARA OPTAR POR EL GRADO DE QUÍMICO Y  
FARMACÉUTICO

**TEMA:**

“DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE  
COMPUESTOS FENÓLICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL RIZOMA  
DE (*Smilax purhampuy* R.)”

**AUTORES:**

CAROLINA FERNANDA MATUTE JIMBO  
ARLU ISABEL TELLO MAYORGA

**TUTORA:**

Q.F PILAR SOLEDISPA CAÑARTE, MSc.

AÑO 2020

GUAYAQUIL – ECUADOR



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA



UNIDAD DE TITULACIÓN



Presidencia  
de la República  
del Ecuador



Plan Nacional  
de Ciencia, Tecnología,  
Innovación y Saberes



SENESCYT  
Sistema Nacional de Estudios Superiores,  
Ciencia, Tecnología e Innovación

FICHA DE REGISTRO DE TRABAJO DE TITULACIÓN

<b>TÍTULO Y SUBTÍTULO:</b>	"DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL RIZOMA DE ( <i>Smilax purhampuy R.</i> )"		
<b>AUTOR(ES)</b> (apellidos/nombres):	MATUTE JIMBO CAROLINA FERNANDA TELLO MAYORGA ARLU ISABEL		
<b>REVISOR(ES)/TUTOR(ES)</b> (apellidos/nombres):	Q.F KATHERINE BUSTAMANTE PESANTES MSc. Q.F PILAR ASUNCION SOLEDISPA CAÑARTE MSc.		
<b>INSTITUCIÓN:</b>	UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL		
<b>UNIDAD/FACULTAD:</b>	FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS		
<b>MAESTRÍA/ESPECIALIDAD:</b>	QUIMICA Y FARMACIA		
<b>GRADO OBTENIDO:</b>	TERCER NIVEL- QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS		
<b>FECHA DE PUBLICACIÓN:</b>	JUNIO - 2020	<b>No. DE PÁGINAS:</b>	64
<b>ÁREAS TEMÁTICAS:</b>	INVESTIGACIÓN		
<b>PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:</b>	CAPACIDAD, ANTIOXIDANTE, RIZOMA, <i>Smilax purhampuy R.</i>		
<b>RESUMEN/ABSTRACT</b>	<p>El presente trabajo de titulación tiene como propósito determinar de la capacidad antioxidante del extracto etanólico del rizoma de <i>Smilax purhampuy R.</i> Los extractos etanólicos y los métodos de evaluación de la actividad antioxidante "In Vitro" fueron realizados en el laboratorio de medicamentos de la Facultad de Ciencias Químicas. En esta investigación se emplearon distintos métodos: Método Folin-Ciocalteu, Método DPPH (2,2- difenil-1- picril hidracilo ), Método FRAP(Ferric Reducing Antioxidant Power), (ABTS●+) ácido 2,2'- azinobis (3- etilbenzotiazolin )-6- sulfónico: se obtuvo como resultado en la determinación de fenoles totales un promedio de 2,73 mg/ml y una DS de 0,05 mg/ml con un <math>R^2 &gt; 0,99</math>. La determinación de flavonoides totales obtuvo un promedio de 0,55 mg/ml y una DS de 0,02 mg/ml con un <math>R^2 &gt; 0,99</math>. En la actividad ferro-reductora existe una tendencia al aumento de la capacidad antioxidante por FRAP, en el método DPPH existe una tendencia al aumento en la capacidad de inhibición de dicho radical y se presentan diferencias significativas en los porcentajes de inhibición del radical ABTS.</p>		
<b>ADJUNTO PDF:</b>	SI	<input checked="" type="checkbox"/>	NO
<b>CONTACTO CON AUTOR/ES:</b>	Teléfono: 0967331504 Teléfono: 0939663057		<b>E-mail:</b> <a href="mailto:carolina.matutej@ug.edu.ec">carolina.matutej@ug.edu.ec</a> <a href="mailto:arlu.tellom@ug.edu.ec">arlu.tellom@ug.edu.ec</a>
<b>CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:</b>	Nombre: UNIDAD DE TITULACIÓN		
	Teléfono: 04-229-3680		
	E-mail: <a href="http://www.fcq.ug.edu.ec">www.fcq.ug.edu.ec</a>		



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA



UNIDAD DE TITULACIÓN

ANEXO VI. - CERTIFICADO DEL DOCENTE-TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA

Guayaquil, 11 de junio 2020

Dra. Q.F. Zoila Luna Estrella, Mgs.  
VICEDECANA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL  
Ciudad. –

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación **DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL RIZOMA DE *Smilax purhampuy R.*** de las estudiante (s) **CAROLINA FERNANDA MATUTE JIMBO, ARLU ISABEL TELLO MAYORGA.** , indicando que ha(n) cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación.

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que las estudiantes **CAROLINA FERNANDA MATUTE JIMBO, ARLU ISABEL TELLO MAYORGA** están aptas para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente,

Q.F. PILAR SOLEDISPA CAÑARTE, MSc.  
C.I. No.: 0909244352



**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA**



**UNIDAD DE TITULACIÓN**

**ANEXO VIII.- INFORME DEL DOCENTE REVISOR**

Guayaquil, 04 de Junio del 2020

Sr.

**Q.F : WALTER MARISCAL SANTI M.S.c**  
**DIRECTOR (A) DE LA CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL**

Ciudad. –

De mis consideraciones:

Envío a Ud. El informe correspondiente a la REVISIÓN FINAL del Trabajo de Titulación **DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL RIZOMA DE *Smilax purhampuy R.*** de las estudiante (s) **CAROLINA FERNANDA MATUTE JIMBO ,ARLU ISABEL TELLO MAYORGA**. Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

El título tiene un máximo de 19 palabras.

La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.

El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad.

La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.

Los soportes teóricos son de máximo ocho años.

La propuesta presentada es pertinente.

Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

El trabajo es el resultado de una investigación.

El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.

El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.

El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado, el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica el que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que el estudiante está apto para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

**Q.F KATHERINE BUSTAMANTE PESANTES MSc.**

**C.I. 0921353686**

**FECHA: 04 de junio del 2020**



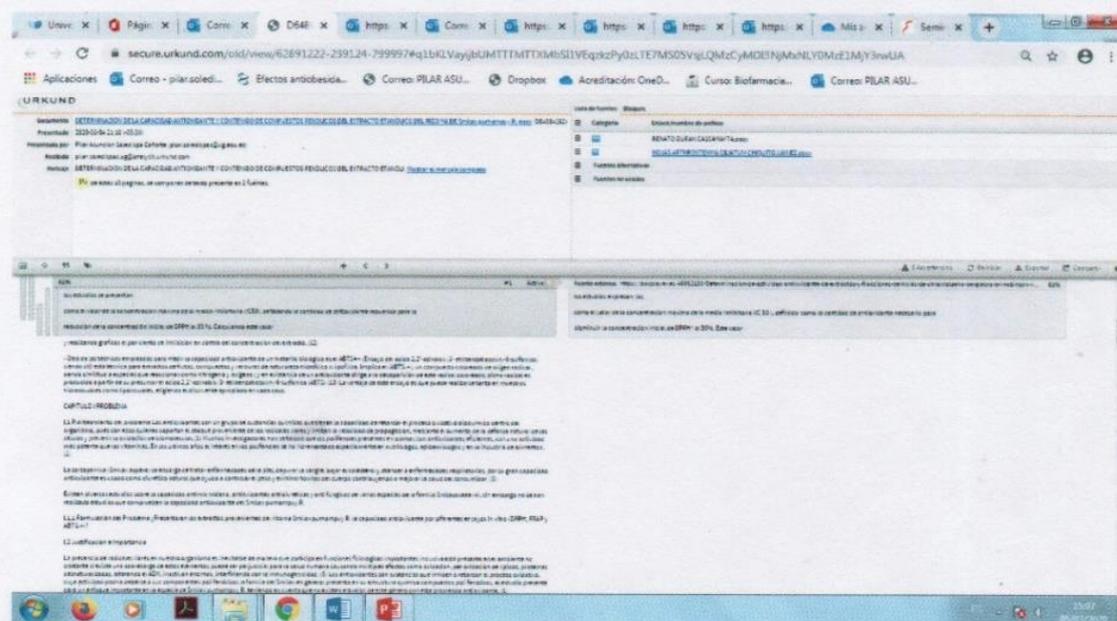
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA  
UNIDAD DE TITULACIÓN



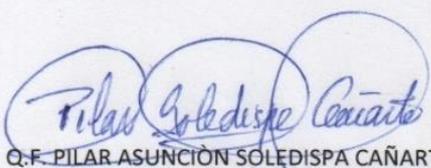
### CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrado **Q.F PILAR ASUNCIÓN SOLEDISPA CAÑARTE. MSc**, tutor del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por **TELLO MAYORGA ARLU ISABEL Y MATUTE JIMBO CAROLINA FERNANDA, C.C: 0955949110 - 0707188793**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de **QUÍMICO Y FARMACÉUTICO**.

Se informa que el trabajo de titulación: **"DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL RIZOMA DE *Smilax purhampuy R.*"**, ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa Antiplagio URKUND quedando el 3 % de coincidencia.



<https://secure.arkund.com/old/view/62891222-239124-799997#q1bKLvayijbUMTTTMTTXMbSIIVEqkzPy0zL7E7MS05VsjLQMzCyMDI3NjMxNLY0MzEI MjY3rwUA>

  
Q.F. PILAR ASUNCIÓN SOLEDISPA CAÑARTE, MSc  
C.I. 0909244352





FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA



UNIDAD DE TITULACIÓN

URKUND

## Urkund Analysis Result

Analysed Document: DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL RIZO MA DE Smilax purhampuy R..docx (D64864292)  
Submitted: 3/5/2020 3:18:00 AM  
Submitted By: pilar.soledispac@ug.edu.ec  
Significance: 3 %

### Sources included in the report:

HOJAS ARTHROSTEMMA CILIATUM CHIQUITO.LAINEZ.docx (D64500154)  
RENATO DURÁN CASCAMAYTA.docx (D48407516)

### Instances where selected sources appear:

4



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA



## UNIDAD DE TITULACIÓN

Guayaquil, 3 de Marzo del 2020

### APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de tutora del Trabajo de Titulación, Certifico: Que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación, cuyo título es: “**DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL RIZOMA DE (*Smilax purhampuy R.*)**”, presentado por **CAROLINA FERNANDA MATUTE JIMBO**, con C.I. No. **0707188793** y **ARLU ISABEL TELLO MAYORGA**, con C.I. No. **0955949110**, previo a la obtención del título de Químicos (as) Farmacéuticos (as).

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Antiplagio del programa URKUND, quedando el **TRES** % de coincidencia. Lo Certifico:

Q.F. PILAR SOLEDISPA CAÑARTE, MSc.  
C.I. No.: 0909244352



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA



UNIDAD DE TITULACIÓN

Guayaquil, 10 de Junio del 2020

## CERTIFICACIÓN DEL TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrado Q.F KATHERINE BUSTAMANTE PESANTES MSc, tutor revisor del trabajo de titulación: “**DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL RIZOMA DE (*Smilax purhampuy R.*)**”, certifico que el presente trabajo de titulación, elaborado por **CAROLINA FERNANDA MATUTE JIMBO**, con C.I. No. **0707188793** y **ARLU ISABEL TELLO MAYORGA**, con C.I. No. **0955949110**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Químicos (as) Farmacéuticos (as), en la Carrera de Química y Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas, ha sido **REVISADO Y APROBADO** en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.

Q.F KATHERINE BUSTAMANTE PESANTES MSc

DOCENTE TUTOR REVISOR

C.I. No.: 0921353686



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA



UNIDAD DE TITULACIÓN

CERTIFICADO DEL TRIBUNAL

Acta de Registro de la Sustentación Final

El tribunal de Sustentación de Trabajo de Titulación de las Señoritas: **MATUTE JIMBO CAROLINA FERNANDA**, con cedula de ciudadanía N° **0707188793** y **TELLO MAYORGA ARLU ISABEL**, con cedula de ciudadanía N° **0955949110**, después de ser examinados en su presentación, memoria científica y defensa oral da por aprobado el Trabajo de Titulación.

Q.F. Patricia Jiménez Granizo Mgs.

Presidente del Tribunal

Q.F. Danilo Vicente Barros Salazar, Mgs.

Docente Miembro 1 del Tribunal

MSc. Carlos Jefferson Valdiviezo Rogel

Docente Miembro 2 del Tribunal

Ab. Francisco Palomeque Romero Mg.

Secretario General



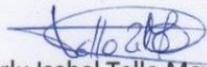
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA**

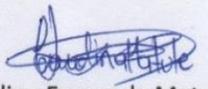


**UNIDAD DE TITULACIÓN**

**LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL  
USO NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS**

Yo Arlu Isabel Tello Mayorga, con C.I. No.: 0955949110 y Carolina Fernanda Matute Jimbo con C.I. No.: 0707188793, certificamos que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es " Determinación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos del extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. " son de mi absoluta propiedad y responsabilidad Y SEGÚN EL Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN\*, autorizo el uso de una licencia gratuita intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la presente obra con fines no académicos, en favor de la Universidad de Guayaquil, para que haga uso del mismo, como fuera pertinente.

  
Arlu Isabel Tello Mayorga

  
Carolina Fernanda Matute Jimbo

**NOMBRES Y APELLIDOS DEL ESTUDIANTE**

**NOMBRES Y APELLIDOS DEL ESTUDIANTE**

C.I. No.: 0955949110

C.I. No.: 0707188793

\*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Dic./2016) Artículo 114.- De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.- En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA



## UNIDAD DE TITULACIÓN

Guayaquil, 5 de Marzo del 2020

### CARTA DE AUTORIA DE TRABAJO DE TITULACION

#### “DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL RIZOMA DE (*Smilax purhampuy* R.)”

Yo, **ARLU ISABEL TELLO MAYORGA**, autora de este trabajo declaro ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este TRABAJO DE TITULACION, me corresponde a mí exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Facultad de Ciencias químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaro también es de mi autoría, que todo material escrito, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además, ratifico que este trabajo no ha sido parcial ni totalmente presentado para la obtención de un título, ni en una Universidad nacional, ni una extranjera.

**ARLU ISABEL TELLO MAYORGA**

C.I. 0955949110



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA



UNIDAD DE TITULACIÓN

Guayaquil, 5 de Marzo del 2020

CARTA DE AUTORIA DE TRABAJO DE TITULACION

“DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y  
CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DEL RIZOMA DE (*Smilax purhampuy R.*)”

Yo, **CAROLINA FERNANDA MATUTE JIMBO**, autora de este trabajo declaro ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este TRABAJO DE TITULACION, me corresponde a mí exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Facultad de Ciencias químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaro también es de mi autoría, que todo material escrito, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además, ratifico que este trabajo no ha sido parcial ni totalmente presentado para la obtención de un título, ni en una Universidad nacional, ni una extranjera.

**CAROLINA FERNANDA MATUTE JIMBO**

C.I. 0707188793

## **Agradecimiento**

Agradezco a Dios en primer lugar, por darme vida, salud y fuerza a lo largo de mis estudios, ya que sin su entendimiento y sabiduría brindada cada día de mi vida no hubiese podido culminar esta hermosa carrera de Química y Farmacia.

Mi agradecimiento a mi tutora, la Dra. Pilar Asunción Soledispa Cañarte M.Sc., por el tiempo, paciencia, conocimientos y su entrega brindada al momento de realizar la investigación, a mis maestros por su dedicación a impartir sus cátedras en las que se convirtieron en nuestro ejemplo a seguir y así formarnos como unos buenos profesionales.

A mis padres Wilson Vicente Matute, Lusila Vicenta Jimbo Rojas agradezco profunda y sinceramente ya que sin ellos no hubiera logrado una meta más en mi vida profesional, gracias por su apoyo moral y entusiasmo que me brindaron para salir adelante en mis propósitos. Por el tiempo que estuvieron conmigo compartiendo sus experiencias, conocimientos y consejos por todo esto gracias.

Sin duda alguna también agradezco a Jonathan Mendoza Macias, a mi familia y a mis grandes amigos por formar parte de esta experiencia de la vida, por compartir momentos únicos, por su entusiasmo, consejos y amor, durante mi formación como profesional.

**CAROLINA FERNANDA MATUTE JIMBO**

## **Agradecimiento**

Después de culminar una etapa importante en mi vida y empezar una profesión, agradezco, sobre todo; a Dios y a mi madre celestial, por permitir que cumpla este objetivo, por darme las fuerzas necesarias para seguir en el momento exacto en el que se tornaba oscuro alguna situación, curricular o externa, que no me permitían gozar del privilegio de ser estudiante universitaria.

A quien nos acompañó en este trabajo de titulación, Dra. Pilar Soledispa, quien no solo cumplía el papel de una tutora académica, sino que llegó a convertirse en consejera, por su gran personalidad empática.

Agradezco de manera especial a mi familia, a mis padres Arturo Tello y Lucía Mayorga, por su guía, apoyo y su querer; siempre buscando el bienestar de cada uno de sus hijos, cuyo esfuerzo y trabajo no puedo pasar por desapercibido. Anhele que este sea sólo uno de los grandes orgullos que les pueda brindar en la vida.

Agradezco a mis amigos cercanos; es muy agradable ir detrás de una meta sabiendo que la gente que está a nuestro lado va dando palabras de aliento o inspirándonos con sus logros.

Estoy agradecida con Dios, la virgen María y la vida, por permitirme contar con todos ustedes. GRACIAS A TODOS.

**ARLU ISABEL TELLO MAYORGA**

## ÍNDICE

RESUMEN .....	xx
ABSTRACT .....	xxi
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPITULO I PROBLEMA .....	4
I.2 Justificación e Importancia .....	5
I.3 Hipótesis .....	6
I.5 Operacionalización de las variables .....	7
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO .....	8
II.1 Antecedentes de la investigación .....	8
II.2 Familia <i>Smilacaceae</i> .....	9
II.2.1 Morfología de la familia <i>Smilacaceae</i> .....	9
II.2.2 Descripción botánica .....	10
II.2.3 Hábitat .....	10
II.2.3.1 Distribución .....	11
II.2.4 Origen .....	12
II.2.5 Clasificación taxonómica .....	13
II.2.6 Composición Química .....	13
II.3 Método para determinación de polifenoles totales .....	14
II.3.1 Método De Folin- Ciocalteu .....	14
II.4 Método para determinación de flavonoides .....	15
II.4.1 METODO COLORIMETRICO DEL TRICLORURO DE ALUMINIO ...	15
II.5 Métodos de evaluación de la actividad antioxidante “ <i>In Vitro</i> ” .....	16
II.5.1 Método ABTS .....	16
II.5.2 Método FRAP .....	17
II.5.3 Método DPPH .....	18
II.6 Actividad antioxidante .....	19
II.6.1 Compuestos con actividad antioxidante .....	20
II.6.1.1 Polifenoles .....	20
II.6.1.2 Flavonoides .....	21
II.7 Clasificación de los Polifenoles .....	22
II.7.1 Ácidos fenólicos: .....	23
II.7.2 Estilbenos: .....	23
II.7.3 Lignanós: .....	23

II.7.4 Alcoholes fenólicos .....	24
CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS .....	25
III.1 Metodología de la investigación .....	25
III .1.1 Tipo de investigación .....	25
III.1.2 Etapas de la investigación .....	25
III.1.3 Población y Muestra .....	26
III.1.4 Criterio de inclusión .....	26
III.1.5 Criterio de exclusión .....	26
III.2 Materiales, reactivos y equipos .....	27
III.2.1 Materiales .....	27
III.2.2 Reactivos.....	27
III.2.3 Equipos .....	28
III.3 Muestra.....	28
III.4 Metodología Experimental .....	28
III.4.1 Extracto .....	28
III.4.2 Método Folin-Ciocalteu .....	28
III.4.2.1 Muestras.....	29
III.4.2.2 Preparación de la curva de calibración: .....	29
III.4.2.3 Procedimiento Folin-Ciocalteu: .....	29
III.4.3 Método colorimétrico del Tricloruro de Aluminio.....	30
III.4.3.1 Muestras.....	30
III.4.3.2 Preparación de la curva de calibración: .....	30
III.4.3.3 Procedimiento de Tricloruro de Aluminio.....	30
III.4.4 Método de FRAP (capacidad ferro-reductora).....	31
III.4.4.1 Muestras.....	31
III.4.4.2 Procedimiento del Método de FRAP .....	31
III.4.5.2 Procedimiento del Método DPPH.....	32
III.4.6 Ensayo del ABTS●+ (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico) .....	33
III.4.6.1 Muestras:.....	33
III.4.6.2 Procedimiento del ensayo del ABTS●+.....	33
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	35
IV.1 Técnicas espectrofotométricas (Fenoles y flavonoides totales) .....	35
IV.1.1 Determinación de fenoles totales .....	35
IV.2 Técnicas espectrofotométricas (Capacidad antioxidante) .....	36

IV.2.1 Método de FRAP (capacidad ferro-reductora) .....	37
IV.2.2 Método DPPH (Capacidad secuestradora del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) .....	40
IV.2.3 Ensayo del ABTS●+ (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico) .....	43
IV.3 Discusión.....	45
CONCLUSIONES .....	50
RECOMENDACIONES .....	51
REFERENCIAS BILIOGRAFICAS .....	52
GLOSARIO .....	60
ANEXOS.....	63

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla I.</b> Conceptualización e indicadores de las variables .....	7
<b>Tabla II.</b> Distribución geográfica de <i>Smilax purhampuy</i> R. ....	11
<b>Tabla III .</b> Clasificación taxonómica de <i>Smilax purhampuy</i> R. ....	13
<b>Tabla IV.</b> Contenido de fenoles totales en el extracto de rizomas. ....	35
<b>Tabla V.</b> Contenido de flavonoides totales en el extracto de rizomas. ....	36
<b>Tabla VI.</b> Actividad ferro-reductora del extracto hidroalcohólico.....	39
<b>Tabla VII.</b> Capacidad secuestradora de DPPH del extracto etanólico de rizomas y las sustancias de referencias. ....	41
<b>Tabla VIII.</b> Capacidad secuestradora del radical ABTS●+ del extracto etanólico de rizomas y las sustancias de referencia.....	44
<b>Tabla IX.</b> Comparación del método DPPH por diferentes autores.....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Rizoma Smilax purhampuy R. ....	10
<b>Figura 2.</b> Reacción del Ensayo Folin-Ciocalteu .....	14
<b>Figura 3.</b> Reacción entre el ácido gálico y el reactivo de FC. ....	15
<b>Figura 4.</b> Estructura química del ABTS.....	17
<b>Figura 5.</b> Método FRAP.....	18
<b>Figura 6.</b> Estructura química del radical libre metaestable DPPH.....	19
<b>Figura 7.</b> Estructura química general de los flavonoides. ....	22
<b>Figura 8.</b> Estructura química básica de las principales clases de polifenoles. .25	
<b>Figura 9.</b> Molécula de Vitamina C.....	37
<b>Figura 10.</b> Molécula de Trolox. ....	37
<b>Figura 11.</b> Curvas de calibración del ácido ascórbico y el FeSO <sub>4</sub> para la determinación de la capacidad antioxidante por FRAP. ....	38
<b>Figura 12.</b> μM equivalentes de ácido ascórbico y de FeSO <sub>4</sub> a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de tubérculos. ....	39
<b>Figura 13.</b> Comportamiento de la capacidad secuestradora del radical DPPH del extracto etanólico de rizomas y las sustancias de referencias.....	41
<b>Figura 14.</b> Curvas de concentración-respuesta de la prueba DPPH, (a) Extracto, (b) Vitamina C, (c) Trolox. ....	42
<b>Figura 15.</b> Comportamiento de la capacidad secuestradora del radical ABTS del extracto de tubérculos y las sustancias de referencia.....	43
<b>Figura 16.</b> Curvas de concentración-respuesta de la prueba ABTS. ....	45

**ÌNDICE DE ANEXOS**

<b>Anexo A.</b> Extracto etanólico .....	63
<b>Anexo B.</b> Muestra en polvo del rizoma Smilax purhampuy R. ....	63
<b>Anexo C.</b> Pesado de la muestra .....	64
<b>Anexo D.</b> Preparación del extracto .....	64

# “DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL RIZOMA DE *Smilax purhampuy* R.”

**Autor:** Carolina Fernanda Matute Jimbo  
Arlu Isabel Tello Mayorga

**Tutora:** Q.F Pilar Soledispa Cañarte, MSc.

## RESUMEN

El presente trabajo de titulación tiene como propósito determinar de la capacidad antioxidante del extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy* R. Los extractos etanólicos y los métodos de evaluación de la actividad antioxidante “In Vitro” fueron realizados en el laboratorio de medicamentos de la Facultad de Ciencias Químicas. En esta investigación se emplearon distintos métodos: Método Folin-Ciocalteu, Método DPPH (2,2- difenil-1- picril hidracilo ), Método FRAP(Ferric Reducing Antioxidant Power), (ABTS●+) ácido 2,2'- azinobis (3- etilbenzotiazolin )-6- sulfónico: se obtuvo como resultado en la determinación de fenoles totales un promedio de 2,73 mg/ml y una DS de 0,05 mg/ml con un  $R^2 > 0,99$ . La determinación de flavonoides totales obtuvo un promedio de 0,55 mg/ml y una DS de 0,02 mg/ml con un  $R^2 > 0,99$ . En la actividad feroreductora existe una tendencia al aumento de la capacidad antioxidante por FRAP, en el método DPPH existe una tendencia al aumento en la capacidad de inhibición de dicho radical y se presentan diferencias significativas en los porcentajes de inhibición del radical ABTS.

**PALABRAS CLAVE:** Capacidad, antioxidante, rizoma, *Smilax purhampuy* R.

**"DETERMINATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY AND CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS OF THE ETHANOLIC EXTRACT OF THE RHIZOMA OF *Smilax purhampuy* R."**

**Author:** Carolina Fernanda Matute Jimbo

Arlu Isabel Tello Mayorga

**Advisor:** Q.F Pilar Soledispa Cañarte, MSc.

### **ABSTRACT**

The purpose of this titration work is to determine the antioxidant capacity of the ethanol extract of the rhizome of *Smilax purhampuy* R. The ethanolic extracts and the methods of evaluation of the antioxidant activity "In Vitro" were carried out in the medicine laboratory of the Faculty of Chemical Sciences. Different methods were used in this investigation: Folin-Ciocalteu Method, DPPH Method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), FRAP Method (Ferric Reducing Antioxidant Power), (ABTS • +) 2,2'-azino-bis acid (3-Ethylbenzothiazolin)-6-sulfonic acid: an average of 2.73 mg / ml and a DS of 0.05 mg / ml with an  $R^2 > 0.99$  were obtained in the determination of total phenols. The determination of total flavonoids obtained an average of 0.55 mg / ml and a DS of 0.02 mg / ml with an  $R^2 > 0.99$ . In the ferrous reductive activity there is a tendency to increase the antioxidant capacity by FRAP, in the DPPH method there is a tendency to increase the inhibition capacity of said radical and there are significant differences in the percentages of inhibition of the ABTS radical.

**KEYWORDS:** Capacity, antioxidant, rhizome, *Smilax purhampuy* R.

## INTRODUCCIÓN

El amplio estudio de la actividad antioxidante de plantas es reconocido por el conocimiento científico por su gran importancia en beneficios claros para la salud de la población. Los beneficios de una actividad antioxidante van desde prevención hasta tratamiento de algunas enfermedades como enfermedades del pulmón, cerebro, corazón, órganos sumamente sensibles al daño oxidativo (1). A nivel de prevención de enfermedades cuenta la dislipidemia, obesidad, enfermedades cerebrovasculares , anginas de pecho , entre otras (2).

La especie *Smilax purhampuy* es una planta con insuficiente información referente a sus usos medicinales, el presente trabajo está relacionado a base de estudios con variables semejantes de otras especies del género *Smilax*.

El origen de la planta del *Smilax* es del Amazonas, reconocida por múltiples propiedades curativas y para tratamiento de enfermedades como inflamaciones intestinales y estomacales, artritis, gastritis crónica, ayuda a desinflamar la próstata, eliminación del exceso de colesterol, triglicéridos y quistes.

La composición química de *Smilax* es descrita por otras especies los compuestos presentes: flavonoides, saponósidos esteroideos, polifenoles, estigmasterol y taninos.

La capacidad antioxidante puede ser medida por varios compuestos uno de ellos son los polifenoles que cuentan con una capacidad antioxidante encontrado en diversas plantas medicinales. Los polifenoles en su estructura cuentan con uno varios grupos hidroxilos en unión a un anillo aromático (3). En el grupo de polifenoles se diferencian el ácido benzoico, cinnámico, cumarinas, fenoles simples, taninos, flavonoides y lignanos (1).

La medición de la actividad antioxidante se clasifica en medios *in vitro*, ensayo del ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (la técnica del 2,2-difenil-1-picril hidracilo (DPPH) (ABTS●+); ensayo de eliminación de peróxido de hidrógeno; de potencia férrica antioxidante reductora (FRAP), entre otros) y métodos *in vivo* GSH)( Glutación-S-transferasa) estimación de la glutación peroxidasa; (capacidad férrica reductora del plasma; estimación de glutación reducido, (etc.) (4).

Entre los métodos más utilizados se encuentran los siguientes:

- Las siglas FRAP en inglés (Ferric Reducing Antioxidant Power) (Benzie y Strain 1996) es el análisis del poder antioxidante de reducción utilizado para medir la capacidad de reducir del ion férrico que contiene el plasma, con el objetivo de medir su estado antioxidante, aun así sirve como una determinación de antioxidantes en plantas (5).

- El método del 2,2-difenil-1-picril hidracilo (DPPH): es un método espectrofotómetro se caracteriza por incluir el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo como radical libre. Este método presentara cambio de coloración de morado a amarillo y se reflejara una reducción de la absorbancia de la reacción. Por el motivo de que el DPPH se une con una sustancia donadora de hidrogeno y la concentración del mismo se presenciara de forma reducida DPPH-H con un monitoreo a nivel espectrofotométrico a 517 obteniendo resultados a nivel de su concentración para la determinación de parámetros de propiedades antioxidantes (6).

- Los resultados de los estudios se presentan como el valor de la concentración máxima de la media inhibitoria (IC<sub>50</sub>), señalando la cantidad de antioxidante requerida para la reducción de la concentración inicial de DPPH al

50 %. Calculando este valor y realizando graficas al por ciento de inhibición en contra del concentración del extracto (7).

- Otra de las técnicas empleadas para medir la capacidad antioxidante de un material biológico es el ABTS•+ (Ensayo del ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico) siendo útil esta técnica para extractos de frutas, compuestos y verduras de naturaleza hidrofílica o lipofílica. Implica el (ABTS•+), un compuesto coloreado de origen radical , dando similitud a especies que reaccionan como nitrógeno y oxígeno ; y en existencia de un antioxidante dirige a la desaparición de este radical coloreado; dicho radical es producido a partir de su precursor el ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS) (8). La ventaja de este ensayo es que puede realizarse tanto en muestras hidrosolubles como liposolubles, eligiendo el disolvente apropiado en cada caso (9).

# CAPITULO I PROBLEMA

## I.1 Planteamiento del problema

Los antioxidantes son un grupo de sustancias químicas que tienen la capacidad de retardar el proceso oxidativo bioquímico dentro del organismo, pues son ellos quienes soportan el ataque proveniente de los radicales libres y limitan la velocidad de propagación, mediante el aumento de la defensa natural de las células y prevenir la oxidación de biomoléculas (10).

Muchos investigadores han señalado que los polifenoles presentes en plantas son antioxidantes eficientes, con una actividad más potente que las vitaminas. En los últimos años el interés en los polifenoles se ha incrementado especialmente en nutriólogos, epidemiólogos y en la industria de alimentos (11).

La zarzaparrilla (*Smilax aspera*) se encarga de tratar enfermedades de la piel, depurar la sangre, bajar el colesterol y atender a enfermedades respiratorias, por su gran capacidad antioxidante es usado como diurético natural que ayuda a controlar el peso y eliminar toxinas del cuerpo contribuyendo a mejorar la salud del consumidor (6).

Existen diversos estudios sobre la capacidad antimicrobiana, antioxidantes antiuréticas y anti fúngicos de varias especies de la familia Smilacaceae (12), sin embargo no se han realizado estudios que comprueben la capacidad antioxidante del *Smilax purhampuy R.*

### **I.1.1 Formulación del Problema**

¿Presentaran los extractos provenientes del rizoma *Smilax purhampuy R.* la capacidad antioxidante por diferentes ensayos *in vitro* (DPPH, FRAP y ABTS•+)?

### **I.2 Justificación e Importancia**

La presencia de radicales libres en nuestro organismo es inevitable de manera que participa en funciones fisiológicas importantes inclusive está presente en el ambiente no obstante si existe una sobrecarga de estos elementos puede ser perjudicial para la salud humana causando múltiples efectos como oxidación, peroxidación de lípidos, proteínas desnaturalizadas, alterando el ADN, inactivan enzimas, interfiriendo con la inmunogenicidad (13).

Los antioxidantes son sustancias que inhiben o retardan el proceso oxidativo, cuya actividad podría deberse a sus componentes poli fenólicos la familia del *Smilax* en general presenta en su estructura química compuestos poli fenólicos, el estudio presente dará un enfoque importante en la especie de *Smilax purhampuy R.* teniendo en cuenta que no existen estudios de este género con esta propiedad antioxidante (10).

El estudio acerca de la capacidad antioxidante de las plantas en general plantea nuevos caminos para futuras investigaciones sobre los posibles beneficios que estas especies estarían aportando a la salud humana (10).

Desde el punto de vista social las plantas son de vital importancia porque pueden ser consumidas como alimentos o utilizadas para aliviar problemas de salud y proporcionando bienestar sobre todo a las personas de bajos recursos económicos (13).

### **I.3 Hipótesis**

El extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy R.* presenta actividad antioxidante debido a su contenido de compuestos fenólicos.

### **I.4 Objetivos**

#### **I.4.1 Objetivo general**

Determinar la presencia de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante en el extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy R.*

#### **I.4.2 Objetivos específicos**

- Evaluar el contenido de compuestos fenólicos en el extracto etanólico del rizoma de *Smilax purhampuy R.* por su posible acción antioxidante.
- Confirmar la actividad antioxidante del extracto etanólico del rizoma del *Smilax purhampuy R.* mediante tres ensayos *in vitro* (FRAP, DPPH y ABTS).

## I.5 Operacionalización de las variables

**Tabla 1.** Conceptualización e indicadores de las variables.

TIPOS	VARIABLES	CONCEPTUALIZACION	INSTRUMENTO	INDICADOR
<b>DEPENDIENTE</b>	Actividad antioxidante	Acción que ejercen ciertas sustancias químicas para contrarrestar la reacción en cadena que generan los radicales libres.	Método: DPPH ABTS  FRAP	Porcentaje de Inhibición del radical y (IC <sub>50</sub> )  Actividad feroreductora (miliequivalentes)
<b>INDEPENDIENTE</b>	Compuestos fenólicos	Los compuestos fenólicos poseen una estructura química adecuada para ejercer una acción antioxidante actuando como captadores de radicales libres.	Método de Folin- Ciocalteu	Concentración mg/mL
	Flavonoides	Constituyen un amplio grupo de los compuestos fenólicos y son procedentes del metabolismo secundario de los vegetales, actúan protegiendo las células del organismo.	Método colorimétrico de tricloruro de Aluminio	Concentración mg/mL

**Fuente:** Autores

## CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

### II.1 Antecedentes de la investigación

La especie *S purhampuy* es una planta con insuficiente información referente a sus usos medicinales, el presente trabajo está relacionado a base de estudios con variables semejantes de otras especies del género *Smilax*.

La familia *Smilacaceae* es muy amplia en sus especies, tiene alrededor de más 250 especies de lianas, arbustos y hierbas engendradas en zonas subtropicales y trópicos de distintos hemisferios con sus respectivas extensiones (14).

Según Parrales y Villamar (15) en su trabajo de titulación en el 2018 sobre el Estudio farmacognóstico y fitoquímico preliminar de las hojas de *Smilax purhampuy* R. destacaron la presencia de metabolitos secundarios con una posible función a nivel farmacológico y antiinflamatorios presenciados entre los parámetros físicos, químicos y del screening fitoquímico.

Otros estudios realizados en el año del 2018 en la Universidad de Guayaquil en Ecuador sobre *Smilax china* fueron claves para la elección de extractos cuando exista una determinación de metabolitos que se encuentren en las hojas como en los rizomas, son útiles 3 diferentes extractos como el acuoso, etéreo, etanólico, presenciaron mayor cantidad de compuestos en mayor porcentaje en el extracto etanólico (16).

## II.2 Familia *Smilacaceae*

**Nombre científico:** *Smilax purhampuy* R.

En 1799 se describió la familia *Smilacaceae* por Ventenat, basándose en el género *Smilax* L. radicado en la región Neotropical. Representados por arbustos trepadores de un solo género llamado *Smilax* alrededor de sus 250 especies a nivel mundial contando con 26 especies; suele confundirse con el género *Dioscorea* una diferencia representativa es la base de sus hojas, por ser decurrente al ápice del peciolo (12) (17).

*Smilax aristolochiaefolia* Mill., *S. febrifuga* Kunth, *S. ornata* fueron las primeras especies registradas de la familia *Smilacaceae* utilizados desde la antigüedad en distintos campos, artesanía, industria alimenticia y medicina de manera principal las especies de *S. regelii* Killip & Morton, *S. spinosa*, y *S. domingensis* (17).

*Smilax* es atribuida a varios nombres utilizados comúnmente como zarzaparrilla y bejuco de la vida. La planta es útil para enfrentar una enfermedad de transmisión sexual muy nombrada como el sífilis, en la industria alimenticia a nivel de exportación de Europa es utilizada como saborizante (17).

### II.2.1 Morfología de la familia *Smilacaceae*

Ferrufino señala que las especies de *Smilax* se identifican por sus diferencias morfológicas con sus hojas glabras, simples, alternas, bejucos leñosos o herbáceos, dioicos de pequeña y mediana longitud, sus frutos son bayas en forma de globos, con distintos tamaños entre los bejucos de la misma especie (18).

## II.2.2 Descripción botánica



**Figura 1.** Rizoma *Smilax purhampuy R.*

**Fuente:** Argadoña (2019)

Las plantas de la familia *Smilacaceae* regularmente su presentación es de bejucos trepadores leñosos cuentan con rizomas tuberosos, sus hojas y tallos se forman como agujones. Sus hojas pueden ser de varias maneras como simples, alternas apicioladas, opuestas pueden tener de 3 a 9 nervios. Sus tipos de flores son unisexuales, pequeñas, axilares, solitarias ,6 tépalos libres o juntos en un tubo, 6 estambres con filamentos. Las anteras son biloculares y el ovario es súpero. Su fruto es una baya con 1 a 3 semillas. Las especies de la familia *Smilacaceae* suelen confundirse de una manera muy fácil con el género *Dioscorea* debido a su gran similitud de los agujones y tallos. No obstante existe una desigualdad muy apreciable en la base de las hojas de *Smilax* es decurrente al ápice del peciolo con zarcillos que nacen de la base del peciolo de la hoja (12) (17).

## II.2.3 Hábitat

El género *Smilax* cuenta con un alrededor de 300 especies asignadas en las regiones templadas y tropicales en ambos hemisferios (21).

### II.2.3.1 Distribución

La familia *Smilacaceae* cuenta con diferentes criterios en su sistemática. Según Judd et al (21) existen únicamente dos géneros *Smilax* y *Ripogonum*. Ferrufino Acosta y Gómez –Laurito (2004) reportan para los trópicos a los géneros *Smilax* L. y *Heterosmilax* Kouth –Según Huft el género *Heterosmilax* está distribuido en el sudeste de Asia, y salvo una especie del género *Luzariaga* en Perú, solamente el género *Smilax* se encuentra en la región Neotropical (21).

**Tabla II.** Distribución geográfica de *Smilax purhampuy* R.

Nombre científico	País/área	Orden	Familia	Género	Especie
<i>Smilax febrífuga</i> Kunth	Perú	Liliales	<i>Smilacaceae</i>	<i>Smilax</i>	<i>purhampuy</i>
<i>Smilax purhampuy</i> Ruiz	Perú	Liliales	<i>Smilacaceae</i>	<i>Smilax</i>	<i>purhampuy</i>
<i>Smilax purhampuy</i> Ruiz	Nicaragua	Liliales	<i>Smilacaceae</i>	<i>Smilax</i>	<i>purhampuy</i>
<i>Smilax purhampuy</i> Ruiz	Colombia	Liliales	<i>Smilacaceae</i>	<i>Smilax</i>	<i>purhampuy</i>
<i>Smilax purhampuy</i> Ruiz	Bolivia	Liliales	<i>Smilacaceae</i>	<i>Smilax</i>	<i>purhampuy</i>
<i>Smilax purhampuy</i> Ruiz	Ecuador	Liliales	<i>Smilacaceae</i>	<i>Smilax</i>	<i>purhampuy</i>

<i>Smilax purhampuy Ruiz</i>	Costa Rica	Liliales	<i>Smilacaceae</i>	<i>Smilax</i>	<i>purhampuy</i>
<i>Smilax purhampuy Ruiz</i>	Honduras	Liliales	<i>Smilacaceae</i>	<i>Smilax</i>	<i>purhampuy</i>
<i>Smilax purhampuy Ruiz</i>	Venezuela	Liliales	<i>Smilacaceae</i>	<i>Smilax</i>	<i>purhampuy</i>
<i>Smilax purhampuy Ruiz</i>	Brasil	Liliales	<i>Smilacaceae</i>	<i>Smilax</i>	<i>purhampuy</i>

**Fuente:** Guambo (2016)

#### II.2.4 Origen.

Esta planta es originaria del Amazonas, notable por varias de sus propiedades tanto terapéuticas como curativas, artritis, inflamaciones intestinales y estomacales la supresión del exceso de colesterol, triglicéridos, desinfección de la próstata, gastritis crónica y quistes (23).

Fern dio a conocer que la lista de verificación mundial de plantas había atribuido el nombre indicado para la especie *Smilax febrifuga* como *Smilax purhampuy R.* a pesar de que al principio las autoridades seguían nombrando *S. febrifuga* (23) (24).

## II.2.5 Clasificación taxonómica.

**Tabla III .** Clasificación taxonómica de *Smilax purhampuy R.*

<b>Clase</b>	<i>Equisetiopsida C. Agardh</i>
<b>Subclase</b>	<i>Magnoliidae Nováckk ex. Takht.</i>
<b>Superorden</b>	<i>Lilianaes Takht</i>
<b>Orden</b>	<i>Liliales Perleb.</i>
<b>Familia</b>	<i>Smilacaceae Vent.</i>
<b>Género</b>	<i>Smilax L.</i>
<b>Especie</b>	<i>purhampuy Ruiz</i>
<b>Nombre científico</b>	<i>Smilax purhampuy Ruiz</i>
<b>Nombre vulgar</b>	<i>Zarzaparrilla</i>

**Fuente:** Guambo (2016)

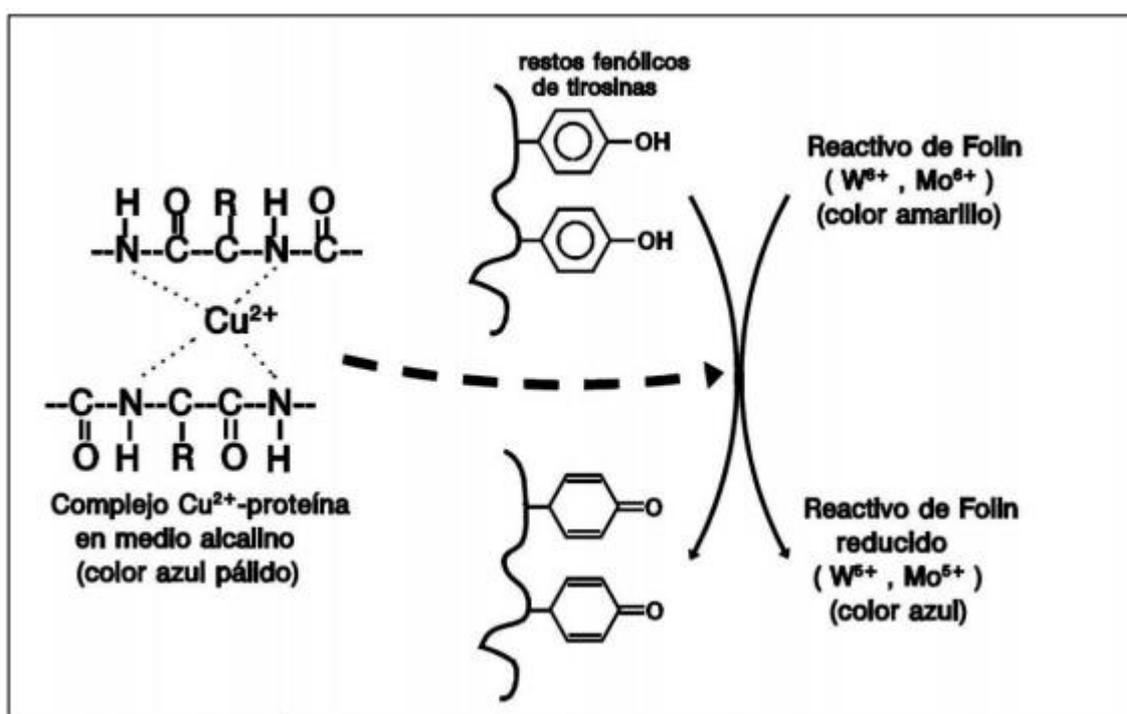
## II.2.6 Composición Química

Los principales componentes encontrados y compartidos por la mayoría de las especies del género son las saponinas esteroidales, fitoesteroles y triterpenoides. La química de *Smilax* ha sido descrita para otras especies las cuales contienen saponósidos esteroideos, flavonoides, polifenoles y estigmasterol, esta publicación demuestra que la tintura 50% contiene flavonoides, saponinas, cumarinas, lactonas sesquiterpénicas y taninos (12).

## II.3 Método para determinación de polifenoles totales

### II.3.1 Método De Folin- Ciocalteu

El contenido de fenoles totales fue determinado por el método Folin-Ciocalteu, donde el reactivo, al reaccionar con los compuestos fenólicos presentes en una preparación, da lugar a un complejo de color azul que exhiben un máximo de absorción a 765 nm, lo cual permite su cuantificación por espectroscopia UV/visible y se expresan en equivalentes de ácido gálico (25).

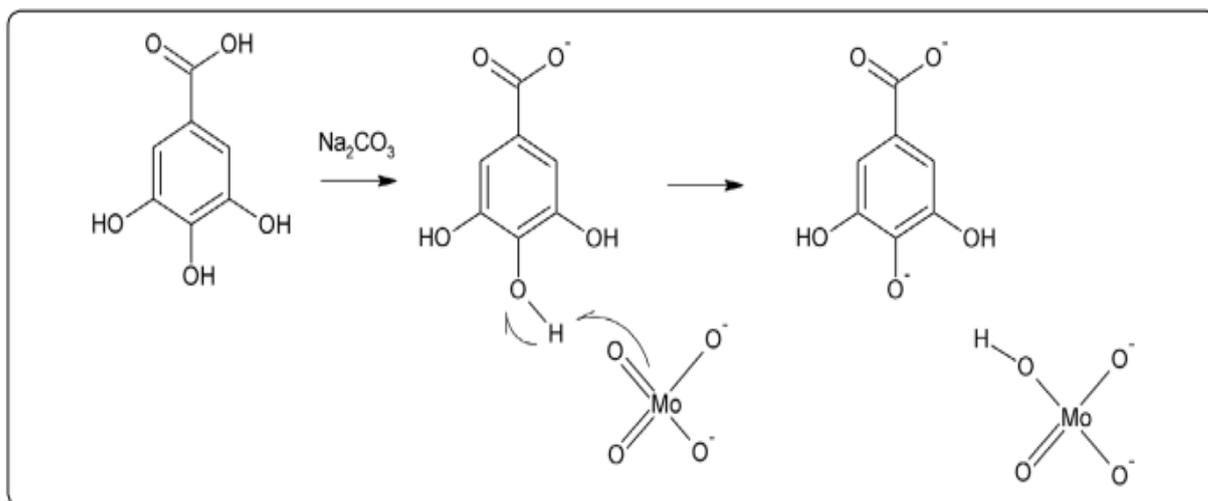


**Figura 2.** Reacción del Ensayo Folin-Ciocalteu

**Fuente:** Maugeri (2017)

El reactivo principal del ensayo consiste en una mezcla de ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico de color amarillo llamado Reactivo de Folin-Ciocalteu por lo que se producen iones de molibdato y tungsteno, a partir de la mezcla de ambos ácidos.

En la actualidad los iones de molibdato han sido considerado por su funcionamiento como los mejores agentes reductores, debido a que existe una gran cantidad de estos iones. Se ha considerado como un requisito que la reacción debe llevar a cabo con un (pH 10) con el objetivo de que se genere un ion felato, el mismo que se reduce a FC mediante una reacción de tipo óxido/reducción, provocando la formación de un complejo de Mo(V) que presenta una coloración azul cuya absorbancia se mide a una longitud de onda de 765 nm (27).



**Figura 3.** Reacción entre el ácido gálico y el reactivo de FC.

**Fuente:** Muñoz (2017)

## II.4 Método para determinación de flavonoides

### II.4.1 METODO COLORIMETRICO DEL TRICLORURO DE ALUMINIO

El contenido de flavonoides totales se determina por el método colorimétrico del tricloruro de aluminio, donde dichos compuestos reaccionan con el reactivo, produciendo un complejo de color amarillo que posee un pico de absorción de luz a 420 nm, y se expresan como mg equivalentes de quercetina (QE)/g de EEP (28).

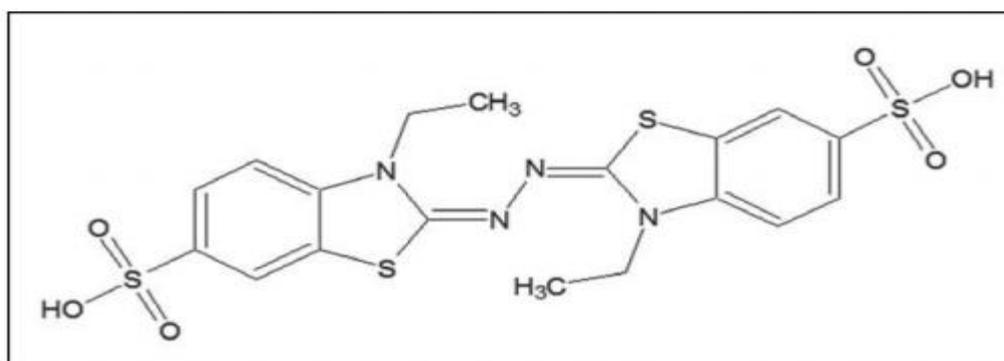
El catión de aluminio forma complejos estables con flavonoides en metanol, que se producen en el análisis espectrofotométrico un desplazamiento hacia longitudes de onda mayores y una intensificación de la absorción. (29).

## II.5 Métodos de evaluación de la actividad antioxidante “*In Vitro*”

### II.5.1 Método ABTS

Ensayo del ácido 2,2'- azinobis (3- etilbenzotiazolin )-6- sulfónico (ABTS●+): es una técnica que se usa para medir la capacidad antioxidante de un material biológico, compuestos puros o extractos de frutas y verduras de naturaleza hidrofílica o lipofílica. Involucra un compuesto coloreado de origen radical (ABTS●+), con la finalidad de simular especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, de esta manera la presencia del antioxidante conduce a la desaparición de este radical coloreado; dicho radical se genera a partir de un precursor el ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolin)-6 sulfónico (ABTS). El radical catiónico obtenido es un compuesto de color verde- azulado, estable y con un espectro de absorción en el UV- visible (734 nm) (30)(31)(9).

La ventaja de este ensayo es que puede realizarse tanto en muestras hidrosolubles como liposolubles, eligiendo el disolvente apropiado en cada caso (9).



**Figura 4.** Estructura química del ABTS.

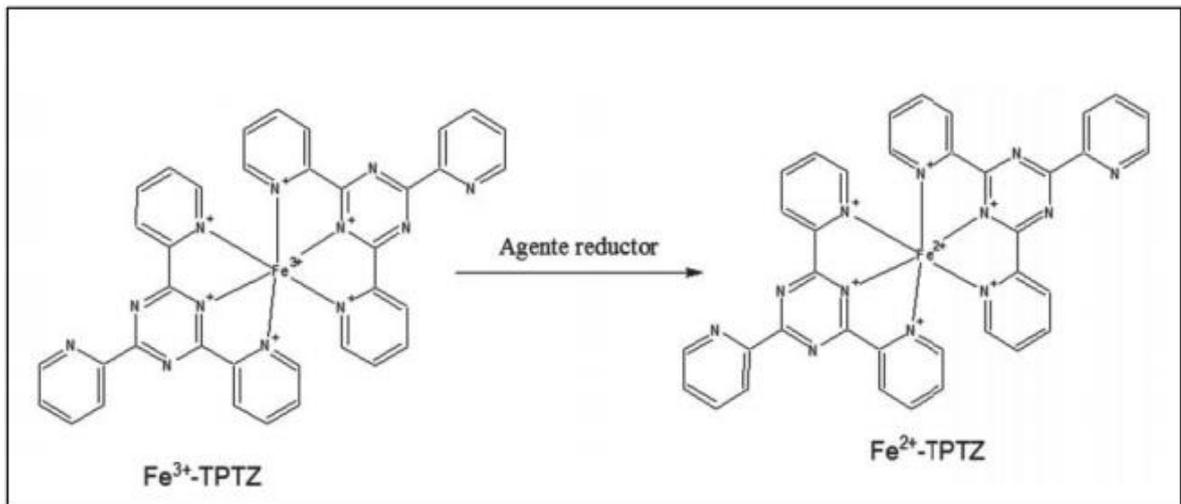
**Fuente:** Londoño (2015)

## II.5.2 Método FRAP

El análisis del poder antioxidante de reducción férrica (FRAP de sus siglas en inglés Ferric Reducing Antioxidant Power) fue introducido por (Benzie y Strain 1996) para estimar la capacidad de reducir el ion férrico que contiene el plasma, como medida de su estado antioxidante, sin embargo, se ha utilizado para el ensayo de antioxidante en plantas (5)(33).

Este método determina la cantidad del catión férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) que se reduce a ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) en presencia de un agente a complejante, el denominado TPTZ (2,4,6- tri(piridil)-1,3,5-triazina) (34).

El complejo de TPTZ y el  $\text{Fe}^{3+}$  actúan con las sustancias antioxidantes dando como producto un ion complejo de  $\text{Fe}^{2+}$ , TPTZ y sus sustancias oxidadas. Este ion complejo  $[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{2+}$  resultante es de color azul intenso y tiene una absorción máxima a 593 nm (4).



**Figura 5.** Método FRAP.

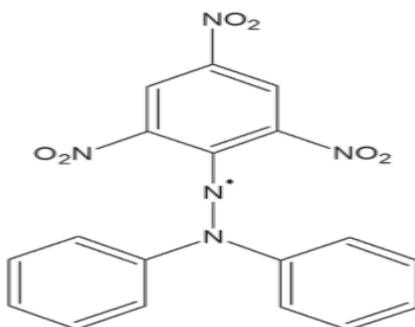
**Fuente:** Londoño (2015)

### II.5.3 Método DPPH

La técnica del 2,2- difenil-1- picril hidracilo (DPPH) según (35)(34) es un método espectrofotómetro que se caracteriza por emplear el 2,2- difenil-1- picrilhidrazilo como radical libre. Al unirse una solución de DPPH con una sustancia que puede donar átomos de hidrogeno la concentración del DPPH disminuye mientras aparece la forma reducida DPPH-H (36).

Como consecuencia ocurre un cambio de coloración de morado a amarillo y disminuye la absorbancia de la reacción. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente a 517 nm y es utilizado para la determinación de los parámetros de las propiedades antioxidantes (37).

Los resultados pueden expresarse de diferentes formas, la mayoría de los estudios son expresados como el valor de la concentración máxima de la media inhibitoria ( $IC_{50}$ ), lo que indica la cantidad de antioxidante necesaria para disminuir la concentración inicial de DPPH al 50%. Este valor se calcula graficando el porcentaje de inhibición contra la concentración del extracto (7).



**Figura 6.** Estructura química del radical libre metaestable DPPH.

**Fuente:** Londoño (2015)

## II.6 Actividad antioxidante

Un antioxidante es una molécula que esta presente en ciertos alimentos se encarga de inhibir la degradacion oxidativa de otras moléculas y efectos dañinos en el funcionamiento fisiologico del cuerpo (1). Principalmente un antioxidante tiene la capacidad de reaccionar con radicales libres, un radical libre es una molecula que tiene uno o mas electrones no apareados en su orbital provocando una reaccion muy elevada que tiene la capacidad de actuar en los sistemas biologicos produciendo cambios en la composicion quimica que causa la destruccion de las celulas (1).

Según (38) los antioxidantes biológicos se refieren a que cuando un sustrato oxidable está en comparación frente a cualquier compuesto que se encuentre en menor concentración, es capaz de retrasar o impedir la oxidación del sustrato.

Las funciones antioxidantes implican:

- Reducción del estrés oxidativo.
- La protección del ADN contra diversas mal formaciones que pueden causar la muerte.
- Otros parámetros que causan el daño celular.

Según (39) los estudios epidemiológicos demostraron la capacidad de los antioxidantes para contener los efectos de la actividad de las especies reactivas del oxígeno y disminuir la incidencia de cáncer y otras enfermedades degenerativas. Sin embargo, principalmente en la acción sostenida de los radicales libres, la capacidad del sistema de defensa contra las especies reactivas de oxígeno (ROS) se puede exceder, lo que lleva a la aparición de

diversas enfermedades. Los primeros sistemas de defensa antioxidante contra el daño oxidativo son aquellos que impiden la presencia de especies reactivas de oxígeno ROS y los que inhiben, atrapan los radicales que se desarrollan.

Para reaccionar frente a los radicales libres, según (39) ellos pueden usar varios mecanismos:

- Estabilizar los antioxidantes primarios creando un ambiente ácido.
- Regeneración de antioxidantes primarios mediante donación de hidrógeno.
- Cationes de metales de transición pro-oxidantes quelantes.
- Apagando el oxígeno molecular.

## **II.6.1 Compuestos con actividad antioxidante**

### **II.6.1.1 Polifenoles**

Los poli fenoles son compuestos de origen vegetal presentes en los alimentos con potentes propiedades antioxidantes, son el grupo más extenso de sustancias no enérgicas (40).

Los compuestos fenólicos pueden mejorar la salud y disminuir la incidencia de enfermedades cardiovasculares. Las últimas investigaciones han demostrado que los poli fenoles pueden tener capacidad antioxidante con potenciales beneficios para la salud (40).

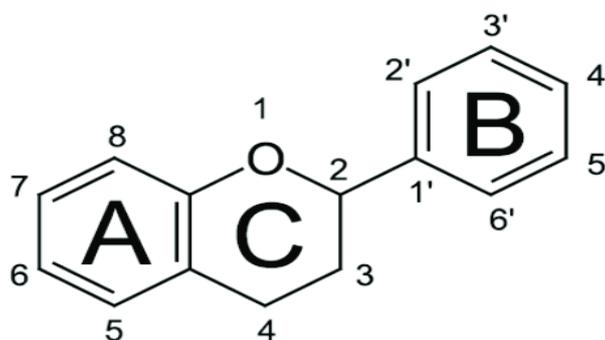
La actividad antioxidante de muchas plantas se debe al alto contenido de compuestos fenólicos los cuales son potentes secuestradores de especies reactivas de oxígeno, aquellos radicales son resultado del metabolismo celular causando daño oxidativo a la célula, relacionado a una amplia lista de enfermedades inflamatorias ,enfermedades como la artritis, aterosclerosis y cáncer (41).

Los poli fenoles disminuyen los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (NOS) a través de la donación de un átomo de hidrogeno para formar un radical fenoxilo menos dañino para las células (42).

Se ha demostrado lo útiles que son los poli fenoles para prevenir el cáncer debido a su efecto anti proliferativo sobre el ciclo celular de células tumorales que ha sido ampliamente demostrada in vitro, pueden ejercer un efecto real en la prevención de esta patología mediante su inhibición del daño oxidativo del ADN (43).

### II.6.1.2 Flavonoides

Según (44) los flavonoides pertenecen a un grupo de compuestos naturales la estructura básica C6-C3-C6, está constituido por dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo heterocíclico es llamado anillo C. El anillo A usualmente muestra funciones oxigenadas en las posiciones C-5 y C-7, en el anillo B las funciones oxigenadas se observan con más frecuencia en las posiciones C-3' y C-4'. No obstante, prácticamente cualquier tipo de sustitución ha sido observada en ambos anillos.



**Figura 7.** Estructura química general de los flavonoides.

**Fuente:** Cuesta (2015)

Los flavonoides son uno de los grupos más abundantes la mayoría de sustancias bioquímicas se encuentra en las plantas y constituyen un amplio grupo de compuestos fenólicos procedentes del metabolismo secundario de los vegetales, son pigmentos naturales presentes en los vegetales han demostrado un amplio espectro de beneficios para la salud potencial, se les atribuye, su efecto antioxidante prevención de enfermedades génica, antiinflamatorio, cardiovascular y su capacidad para inhibir diversos procesos enzimáticos relacionados con el sistema vascular.

El consumo de flavonoides en una dieta basada en plantas puede ser varias veces mayor que el consumo de otros fotoquímicos y vitaminas, incluyendo el ácido ascórbico (vitamina C),  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E) o carotenoides. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos (45).

Los flavonoides presentan una gran diversidad de efectos biológicos, sin embargo, tienen la capacidad de disminuir la fragilidad capilar y son conocidos por su efecto antioxidante. Muchos flavonoides reaccionan con los radicales libres para prevenir las degradaciones asociadas a su intensa actividad sobre los fosfolípidos de las membranas, por lo que se les considera como excelentes antioxidantes. Su poder antioxidante ha difundido su empleo como preventivo en afecciones cancerígenas. Adicionalmente, se les ha asociado con efectos hepatoprotectores, antiinflamatorios y diuréticos (46).

Según (47) los efectos farmacológicos más aplicados de los flavonoides son el antioxidante y aquellos que aumentan la resistencia y disminuyen la permeabilidad en venas y capilares.

## **II.7 Clasificación de los Polifenoles**

Según (48) existen más de 8000 variantes estructurales, su característica estructural general es la presencia de anillos aromáticos, con uno o más restos hidroxilo. Los polifenoles se dividen en varias clases de acuerdo con el número

de anillos fenólicos que contienen y a los elementos estructurales que se unen entre ellos. Hay 6 grandes grupos: ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides.

### **II.7.1 Ácidos fenólicos:**

Son compuestos orgánicos poli fenólicos no flavonoides se encuentran divididos en dos tipos principales, derivados del ácido benzoico y derivados del ácido cinámico. Muchas frutas y verduras contienen muchos ácidos fenólicos libres, en granos y semillas se encuentran son a menudo en la forma unida, se encuentran en casi en todos los alimentos de origen vegetal (49).

### **II.7.2 Estilbenos:**

Es un hidrocarburo aromático, de fórmula  $C_{14}H_{12}$ , a esta familia pertenecen los polifenoles naturales presentes en muchas familias de plantas superiores, los podemos encontrar en cantidades bajas en la dieta humana. El más representativo es el resveratrol de la uva, su función natural es la de proteger a la planta de infecciones por hongos, actúa como un antibiótico natural, destacan también su poder antioxidante y antiinflamatorio (50)(51).

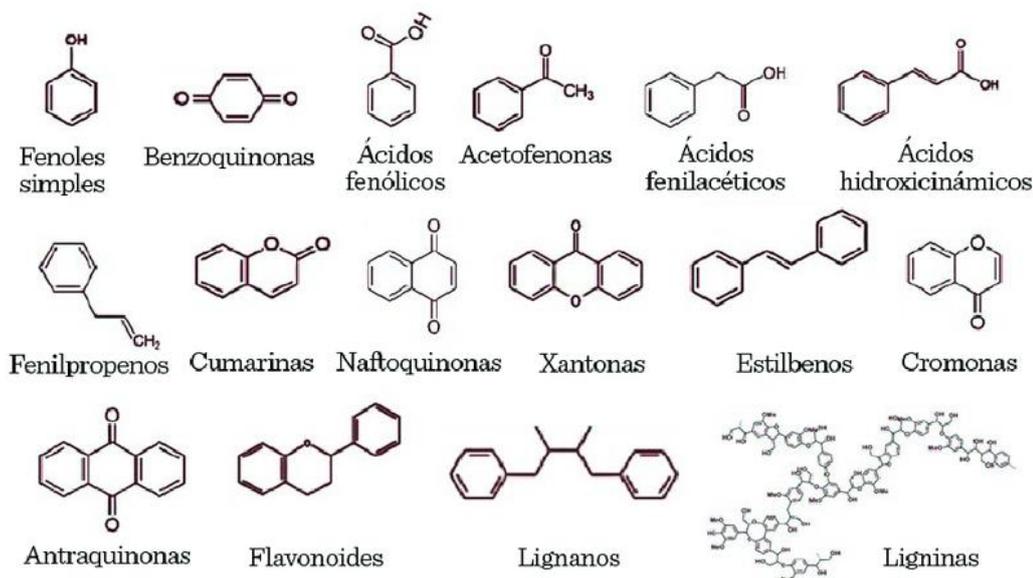
### **II.7.3 Lignanos:**

Están presentes generalmente en forma libre, aunque también existen derivados glicósidos. Son un químico natural de muchas semillas considerados como hormonas de las plantas, la principal fuente dietética es la semilla de lino pudiendo llegar hasta los 3.7 g/kg de peso seco de secoisolariciresinol diglucósido (SDG) según la variedad (52).

El consumo de SDG puede proteger contra el desarrollo de enfermedades crónicas, como enfermedades cardiovasculares. Se describe otros efectos muestran una amplia gama de funciones biológicas, incluidas actividades estrogénicas y cardioprotectores débiles, así como propiedades antiestrogénicas, antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas (53).

#### II.7.4 Alcoholes fenólicos

Los principales alcoholes fenólicos son Tiroso (4-hidroxifeniletanol) e hidroxitiroso (3,4-dihidroxifeniletanol) y se encuentran en mayor proporción en el aceite extra virgen de oliva con un porcentaje de fenoles totales aproximado del aceite comercial es de aproximadamente (180 mg/kg), el Tiroso también lo podemos encontrar en vinos tintos, blancos y en cerveza. Mientras que hidroxitiroso lo encontramos en el vino tinto. Se ha descrito actividad protectora frente a la colitis y como un antioxidante puede proteger las células contra el daño debido a la oxidación (54)(55).



**Figura 8.** Estructura química básica de las principales clases de polifenoles.

**Fuente:** Lizárraga (2018)

## CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS

### III.1 Metodología de la investigación

#### III .1.1 Tipo de investigación

El presente trabajo de investigación es de tipo explicativo, experimental cualitativo-cuantitativo.

Experimental: Se evaluará la actividad antioxidante y compuestos fenólicos “in vitro” del extracto etanólico del *S. purhampuy R.*

#### III.1.2 Etapas de la investigación

El mismo se realizará en dos etapas, estas se desarrollarán de la siguiente manera:

La primera etapa del desarrollo de este trabajo de investigación se realizará los siguientes análisis:

- Determinación de compuestos fenólicos:
  - Fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.
  - Flavonoides totales por el método colorimétrico del tricloruro de aluminio.

La segunda etapa consta de:

- Determinación de la actividad antioxidante:

Método DPPH

Método FRAP

Método ABTS

### III.1.3 Población y Muestra

En esta investigación se recolectó el rizoma de la planta cuyo nombre común es Zarzaparrilla (*S purhampuy R.*) se recolecto en la provincia Francisco de Orellana en el mes de Junio y Agosto del año 2019.

La especie vegetal se identificó en el herbario de GUAY de la Facultad de Ciencias Naturales en la Universidad de Guayaquil en el cual se obtuvo la siguiente clasificación taxonómica.

**Clase:** Equisetiopsida C. Agandh

**Subclase:** Magnolidae Novak ex. Takht.

**Superorden:** Liliae Takht.

**Orden:** Liliales Perleb.

**Familia:** Smilacaceae Vent.

**Género:** *Smilax L.*

**Nombre científico:** *Smilax cf. Purhampuy Ruiz*

**Nombre vernáculo:** Zarzaparrilla

### III.1.4 Criterio de inclusión

Rizomas frescos y enteros.

### III.1.5 Criterio de exclusión

Rizomas descompuestos y secos.

## III.2 Materiales, reactivos y equipos

### III.2.1 Materiales

- Micropipetas de 5-1000  $\mu\text{L}$
- Tubos de ensayos

### III.2.2 Reactivos

- Acetato de sodio anhidro
- Ácido acético (99,7 %)
- 2,4,6-Tripiridil-s-triazina (TPTZ) (Aldrich)
- Ácido clorídrico (37 %)
- $\text{FeCl}_3$
- $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$  (sustancia de referencia)
- Ácido ascórbico (99 % pureza, Aldrich) (sustancia de referencia)
- DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidracilo) (Sigma)
- Etanol absoluto calidad para análisis
- Ácido ascórbico (99 % pureza, Aldrich) (sustancia de referencia)
- Trolox (sustancia de referencia)
- ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico)
- Persulfato de potasio
- Etanol al 96 %
- Ácido ascórbico (99 % pureza, Aldrich) (sustancia de referencia)
- Ácido gálico (Sustancia de referencia)
- Reactivo de Folin – Ciocalteu

- Carbonato de Sodio (7,5 %)
- Quercetina (Sustancia de referencia)
- Tricloruro de aluminio al 10%
- Acetato de Potasio ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$ )

### **III.2.3 Equipos**

- Espectrofotómetro Rayleigh UV-1601, China
- Balanza
- Extractor Soxhlet

### **III.3 Muestra**

- Extracto etanólico del rizoma.

### **III.4 Metodología Experimental**

#### **III.4.1 Extracto**

El rizoma seco se procesó en un mortero hasta obtener partículas finas, a las cuales se les adicionaron 150 mL de una solución de etanol/cloroformo 2:1 y se sometieron a extracción soxhlet durante 6 horas. El extracto obtenido se filtró con un papel filtro, antes de secar el sobrenadante a presión reducida en un rota-evaporador. Todos los extractos se almacenaron a  $-10^\circ\text{C}$  en condiciones de oscuridad hasta la preparación de las concentraciones de trabajo.

#### **III.4.2 Método Folin-Ciocalteu**

El contenido de fenoles totales se determinó por el método de Folin – Ciocalteu (57)(31)(58).

#### **III.4.2.1 Muestras**

- Extracto etanólico del rizoma.
- Sustancia de referencia: Acido gálico (Sigma- Aldrich)

#### **III.4.2.2 Preparación de la curva de calibración:**

Para la curva de calibración se utilizó una solución estándar de ácido gálico (SIGMA), de la cual se prepararon cuatro concentraciones de 10, 20, 30, 40 y 50 mg/100 mL de ácido gálico con agua destilada.

#### **III.4.2.3 Procedimiento Folin-Ciocalteu:**

Solución diluida de Folin-Ciocalteu: se tomó 10 mL del reactivo Folin - Ciocalteu y se diluyó a 100 mL con agua destilada.

Solución de carbonato de sodio 7,5%: se pesó 75 gramos de Carbonato de sodio anhidro  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y se disolvió en un litro de agua destilada.

En los tubos de ensayo de aproximadamente 50 mL de capacidad:

Se tomaron aproximadamente 200  $\mu\text{L}$  de la solución de referencia y la muestra previamente preparada, se le adiciono 10 mL de la solución diluida de Folin-Ciocalteu y 1,8 mL de agua destilada, se agito y espero cinco minutos. Luego se adicionaron 8 mL de solución 7,5% de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , se agito nuevamente y se dejó en reposo durante dos horas. La absorbancia fue leída a 765 nm.

Se peso 500 mg de ácido gálico y se disolvió en 20 mL de etanol al 96%. Se transfirió cuantitativamente a un matraz aforado de 50 mL y se enraso con agua

destilada. De esta solución concentrada de ácido gálico se tomaron alícuotas de 1,2,3,4 y 5 mL y se diluyeron a 100 mL. Estas diluciones correspondieron a las concentraciones de 10, 20, 30, 40 y 50 mg/100 mL de ácido gálico, con la que se construyó una curva de calibración de absorbancia contra concentración. El contenido de fenoles totales se expresó en mg/mL.

### **III.4.3 Método colorimétrico del Tricloruro de Aluminio**

La determinación de flavonoides totales se llevó a cabo por el método colorimétrico del tricloruro de aluminio, según lo referido por (3)(57).

#### **III.4.3.1 Muestras**

- Extracto etanólico del rizoma.
- Sustancia de Referencia: Quercetina (Sigma- Aldrich)

#### **III.4.3.2 Preparación de la curva de calibración:**

Para la curva de calibración se utilizó una solución estándar de quercetina (Sigma- Aldrich), a partir de una solución madre de quercetina (100µg/mL) en etanol al 96% se realizaron diluciones a 5, 20, 50, 60 y 80 µg/mL.

#### **III.4.3.3 Procedimiento de Tricloruro de Aluminio**

En los tubos de ensayo aproximadamente:

Se tomo 0,5 mL de extracto o solución de patrón de quercetina, se adiciono 1,5 mL de etanol al 96%; 0,1 mL de tricloruro de aluminio al 10%; 0,1 mL de acetato de potasio 1M y 2,8 mL de agua destilada. Luego esperar treinta minutos

y leer a 415 nm. El blanco fue etanol al 96%. El contenido de flavonoides totales se expresó en base a quercetina (mg/mL).

#### **III.4.4 Método de FRAP (capacidad ferro-reductora)**

Las determinaciones fueron de carácter espectrofotométrico, se empleó un espectrofotómetro UV- visible a una absorbancia de 593 nm.

##### **III.4.4.1 Muestras**

Extracto etanólico al 80% de rizomas a las concentraciones de 25, 50, 100, 150 y 200 µg/mL.

##### **III.4.4.2 Procedimiento del Método de FRAP**

Para conformar el reactivo de FRAP, se mezcló buffer acetato de sodio 300 mM (pH 3,6), 10 mM de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) y 20 mM de cloruro férrico (25:2,5:2,5 v:v:v).

Se tomaron 30 µL de cada dilución de los extractos (a las concentraciones de 25, 50, 100, 150 y 200 µg/mL) y se mezclaron con 900 µL de la disolución FRAP y 90 µL de agua destilada. Una vez realizada la mezcla, la reacción que ocurre mide la reducción del complejo férrico-TPTZ, en la cual el hierro férrico ( $\text{Fe}^{3+}$  - TPTZ) se reduce a ion ferroso a bajo pH, causando la formación de un complejo ferroso-tripiridiltriazina ( $\text{Fe}^{2+}$  - TPTZ) de color azul intenso con un máximo de absorción a una longitud de onda de 593 nm. El blanco consistió en 120 µL de agua y 900 µL de reactivo. Cada determinación se llevó a cabo por triplicado.

Los resultados fueron expresados como µmol equivalentes de ácido ascórbico (EAA) y como µmol equivalentes de Sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4$ ), a partir del cálculo

interpolando la densidad óptica (D.O) de las muestras en las curvas de calibración de ambas sustancias de referencia a las concentraciones de 100, 200, 400, 500 y 800  $\mu\text{M}$ . Las lecturas se realizaron por triplicado a los cuatro minutos.

#### **III.4.5. Método DPPH (Capacidad secuestradora del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)**

Para la determinación cuantitativa se utilizó el método del radical libre DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo). Se empleó un espectrofotómetro UV- visible y las determinaciones fueron medidas a 517 nm al cabo de los 30 min (46) (36).

##### **III.4.5.1 Muestras:**

Extracto etanólico al 80% de rizomas a las concentraciones de 25, 50, 100, 150 y 200  $\mu\text{g/mL}$ .

##### **III.4.5.2 Procedimiento del Método DPPH**

Se tomaron 10  $\mu\text{L}$  de cada concentración de los extractos (25, 50, 100, 150 y 200  $\mu\text{g/mL}$ ) y de las sustancias de referencia a las mismas concentraciones, se mezclaron con 900  $\mu\text{L}$  del reactivo DPPH (0,075  $\text{mg/mL}$ ) y 90  $\mu\text{L}$  de etanol absoluto.

El blanco consistió en una mezcla de 900  $\mu\text{L}$  de DPPH y 100  $\mu\text{L}$  de etanol absoluto. La reacción se dejó en la oscuridad durante 30 minutos en un espectrofotómetro y posteriormente se leyeron las muestras a una longitud de onda de 517 nm. Cada determinación se llevó a cabo por triplicado.

Los resultados fueron expresados como porcentaje de inhibición del radical DPPH según la fórmula siguiente:

% de inhibición del radical DPPH =  $[(Ab - Am)/Ab] \times 100$

**Donde:**

**Ab:** absorbancia del blanco (nm)

**Am:** absorbancia de la muestra (nm)

Se determinó la concentración inhibitoria media (IC<sub>50</sub>) con ayuda del programa estadístico Graphprism 5.0.

Valores cercanos a 20 µg/mL se consideran de interés.

#### **III.4.6 Ensayo del ABTS•+ (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico)**

El ensayo se realizó según la metodología de (59) (60)(61).

##### **III.4.6.1 Muestras:**

Extracto etanólico al 80% de rizomas a las concentraciones de 100, 200, 300, 400 y 500 µg/mL.

##### **III.4.6.2 Procedimiento del ensayo del ABTS•+**

El ensayo fue basado en la habilidad de diferentes sustancias de secuestrar el radical catiónico ABTS•+, el cual fue preparado mezclando una solución de ABTS 7mM y persulfato de potasio 2,45 mM (1/1, v/v). La mezcla se mantuvo en la oscuridad por 16 horas para la formación del radical. La solución ABTS•+ fue diluida con etanol al 96% hasta lograr una absorbancia de  $0,700 \pm 0,05$  a 734 nm.

Se mezcló 980  $\mu\text{L}$  de la solución de ABTS radicalico con 20  $\mu\text{L}$  de los extractos ensayados y la sustancia de referencia (ácido ascórbico) a las concentraciones de 100, 200, 300, 400 y 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Se incubó por 30 min para su posterior lectura a 734 nm en un espectrofotómetro UV- visible. Cada determinación se llevó a cabo por triplicado.

Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición del radical  $\text{ABTS}\bullet+$  según la fórmula siguiente:

$$\% \text{ de inhibición} = [A_{734} (\text{ABTS}) - A_{734} (\text{antioxidante})] / A_{734} (\text{ABTS}) \times 100$$

Se determinó la concentración inhibitoria media ( $\text{IC}_{50}$ ) con ayuda del programa estadístico Graphprism 5.0.

## CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIONES

### IV.1 Técnicas espectrofotométricas (Fenoles y flavonoides totales)

#### IV.1.1 Determinación de fenoles totales

El contenido de fenoles totales fue determinado por el método de Folin-Ciocalteu, donde el reactivo, al reaccionar con los compuestos fenólicos presentes en una preparación, da lugar a un complejo de color azul que exhiben un máximo de absorción a 765 nm, lo cual permite su cuantificación por espectroscopia UV/visible y se expresan en equivalentes de ácido gálico.

**Tabla IV.** Contenido de fenoles totales en el extracto de rizomas.

	UNIDADES	RESULTADOS
Media $\bar{x}$	mg/mL	2,73
Desviación estándar DS	-	0,05

**Fuente:** Autores

Se logró una curva de calibración con buena correlación entre las concentraciones ensayadas de las sustancias de referencia (ácido gálico) y las absorbancias. El coeficiente de correlación ( $R^2$ ) fue  $\geq 0,99$ , esto es indicativo del buen ajuste de la ecuación a los datos experimentales.

#### IV.1.2 Determinación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales fue determinado por el método colorimétrico del tricloruro de aluminio, donde dichos compuestos reaccionan con el reactivo, produciendo un complejo de color amarillo que posee un pico de absorción de luz a 415nm.

**Tabla V.** Contenido de flavonoides totales en el extracto de rizomas.

	<b>UNIDADES</b>	<b>RESULTADOS</b>
<b>Media <math>\bar{x}</math></b>	mg/mL	0,55
<b>Desviación estándar DS</b>	-	0,02

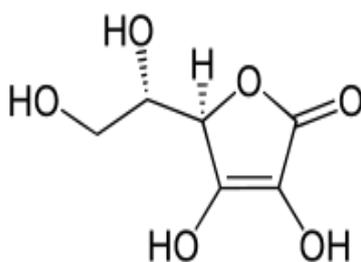
**Fuente:** Autores

Se logró una curva de calibración con buena correlación entre las concentraciones ensayadas de las sustancias de referencia (quercetina) y las absorbancias. El coeficiente de correlación ( $R^2$ ) fue  $\geq 0,99$ , esto es indicativo del buen ajuste de la ecuación a los datos experimentales.

#### **IV.2 Técnicas espectrofotométricas (Capacidad antioxidante)**

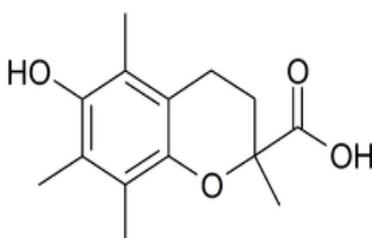
La actividad antioxidante de los extractos fue evaluada por tres métodos diferentes, pues se sabe que los antioxidantes pueden actuar por múltiples mecanismos, dependiendo del sistema de reacción o la fuente radicalaria u oxidante.

Como sustancias de referencias se utilizaron el sulfato de hierro, la vitamina C y el Trolox. El sulfato de hierro ( $\text{FeSO}_4$ ) ha sido utilizado como estándar, específicamente en el ensayo de FRAP, se caracteriza por ser soluble en agua y por su elevada actividad antioxidante. La vitamina C es un potente antioxidante soluble en agua que se asocia con varios efectos beneficiosos en el sistema inmune, en el proceso de envejecimiento, en la integridad endotelial y en el metabolismo de las lipoproteínas. El Trolox es un antioxidante soluble en agua, que se sintetizó como un derivado de la vitamina E y se ha utilizado como un antioxidante estándar para estos ensayos de capacidad antioxidante.



**Figura 9.** Molécula de Vitamina C.

**Fuente:** Donamaria (2006)



**Figura 10.** Molécula de Trolox.

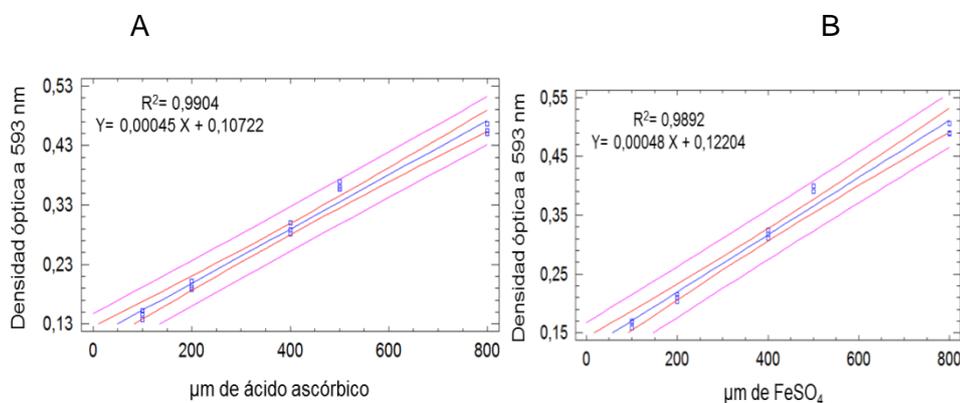
**Fuente:** Álvarez (2016)

#### **IV.2.1 Método de FRAP (capacidad ferro-reductora)**

El ensayo FRAP está basado en la habilidad de los compuestos fenólicos para reducir  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$  (42). En presencia de 2,4,6-tripiridil-s-triazina, la reducción se encuentra acompañada de la formación de un complejo coloreado de  $\text{Fe}^{2+}$  de color azul. El extracto a las cinco concentraciones ensayadas mostró desde el punto de vista cualitativo un cambio del color a azul intenso, lo cual es indicativo de la presencia de sustancias antioxidantes en el mismo.

Los resultados expresaron la capacidad reductora del catión  $\text{Fe}^{3+}$  del extracto como  $\mu\text{M}$  equivalentes de ácido ascórbico y  $\mu\text{M}$  equivalentes de  $\text{FeSO}_4$  (sustancias de referencias utilizadas y reconocidas por tener un alto valor antioxidante), a partir de las curvas de calibración de dichos patrones obtenidas

por regresión lineal (figura 1) con sus respectivas ecuaciones, donde Y es la absorbancia y X la concentración.



**Figura 11.** Curvas de calibración del ácido ascórbico y el FeSO<sub>4</sub> para la determinación de la capacidad antioxidante por FRAP.

**Fuente:** Autores

Se logró una buena correlación entre las concentraciones ensayadas de las sustancias de referencia y las densidades ópticas, con un coeficiente de correlación  $\geq 0,99$ ; esto es indicativo del buen ajuste de la ecuación del modelo a los datos experimentales.

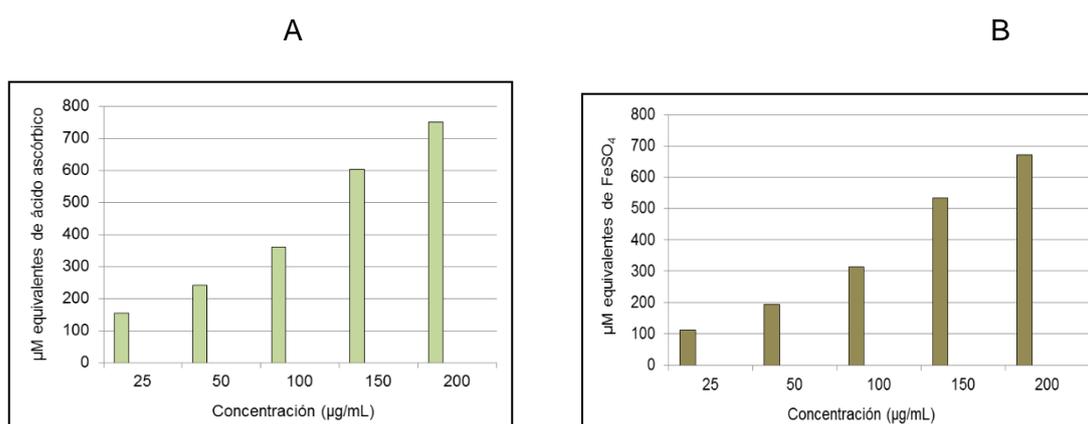
En la tabla VI se muestra la actividad ferro-reductora asociada al extracto evaluado. Se evidenció actividad antioxidante de manera concentración-dependiente, lográndose en todas las concentraciones ensayadas del extracto, valores superiores (en equivalentes de ácido ascórbico y FeSO<sub>4</sub>) a la menor concentración ensayada (100 µM) de cada sustancia de referencia.

**Tabla VI.** Actividad ferro-reductora del extracto etanólico de rizomas.

Concentración µg/mL	Actividad ferro-reductora / DE	
	µM equivalentes de ácido ascórbico	µM equivalentes de FeSO <sub>4</sub>
25	154,24/7,79	113,80/7,31
50	241,73/11,11	195,75/10,42
100	360,25/18,50	313,80/27,11
150	602,46/15,60	533,94/14,63
200	749,88/11,18	672,13/10,48

**Fuente:** Autores

En la figura 12 se muestran los gráficos de µM equivalentes de ácido ascórbico y de FeSO<sub>4</sub> contra concentración para el extracto. Existe una tendencia al aumento de la capacidad antioxidante por FRAP a medida que aumenta la concentración del extracto.



**Figura 12.** µM equivalentes de ácido ascórbico y de FeSO<sub>4</sub> a diferentes concentraciones del extracto etanólico del rizoma .

**Fuente:** Autores

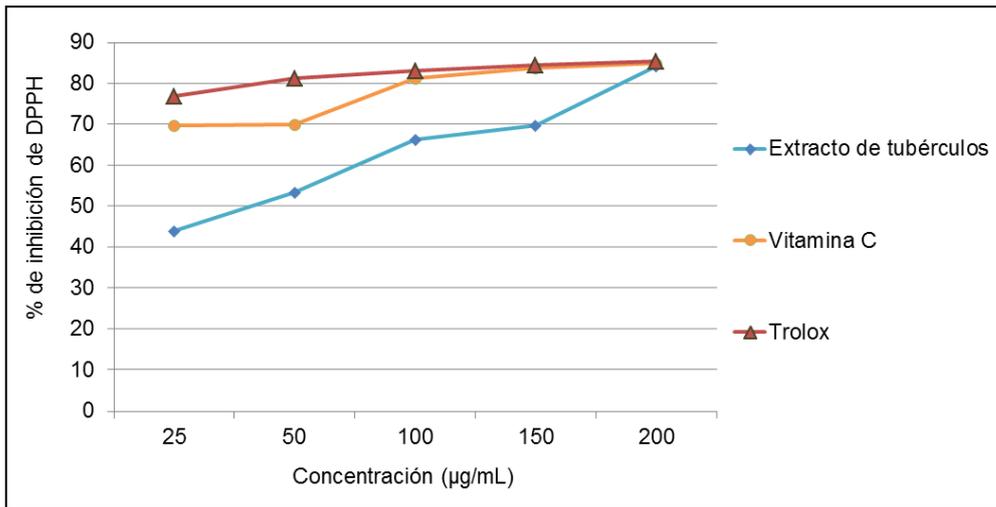
Los resultados permitieron sugerir que el extracto etanólico de rizomas presentan una elevada actividad antioxidante, lo cual se traduce en los altos valores de  $\mu\text{M}$  equivalentes expresados en función de las sustancias de referencias ensayadas.

#### **IV.2.2 Método DPPH (Capacidad secuestradora del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)**

Este ensayo evalúa la capacidad de un antioxidante para reducir el radical DPPH. El compuesto 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH) es un radical estable que presenta una coloración violeta intensa y que en presencia de un antioxidante ocurre un cambio hacia amarillo, que se mide espectrofotométricamente a 517 nm (64)(2).

Desde el punto de vista cualitativo se pudo apreciar cambio de coloración de púrpura a amarillo en el extracto a medida que aumentaba la concentración. Esto es causado por la presencia de sustancias antirradicales en el extracto que redujeron el radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) en conjunto, con la pérdida de absorbancia en la disolución.

En la figura 13 se muestra un gráfico de % de inhibición del radical DPPH contra concentración del extracto y sustancias de referencias ensayados. Existe una tendencia al aumento de la capacidad de inhibición de dicho radical a medida que aumenta la concentración. A la máxima concentración ensayada el extracto y las sustancias de referencia tuvieron un comportamiento similar.



**Figura 13.** Comportamiento de la capacidad secuestradora del radical DPPH del extracto etanólico de rizomas y las sustancias de referencias.

**Fuente:** Autores

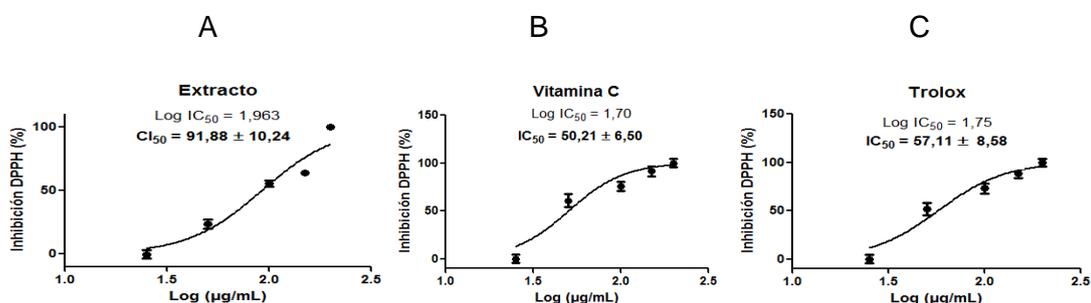
Como se puede observar en la tabla VII, se presentaron diferencias significativas entre las muestras a las concentraciones de 25, 50 y 100 µg/ml. Sin embargo, a la máxima concentración ensayada, el extracto tuvo un comportamiento similar a las dos sustancias de referencias, con porcentajes de inhibición superiores a 84%.

**Tabla VII.** Capacidad secuestradora de DPPH del extracto etanólico de rizomas y las sustancias de referencias.

Concentración µg/mL	Porcentaje de secuestro del radical DPPH (%) / DE		
	Extracto	Vitamina C	Trolox
25	43,95/1,26 <sup>a</sup>	69,73/0,70 <sup>b</sup>	76,94/0,74 <sup>c</sup>
50	53,45/0,60 <sup>d</sup>	70,04/0,60 <sup>e</sup>	81,22/0,60 <sup>f</sup>
100	66,28/1,02 <sup>g</sup>	81,34/0,75 <sup>h</sup>	83,03/0,82 <sup>i</sup>
150	69,73/0,78 <sup>j</sup>	83,70/0,75 <sup>k</sup>	84,34/0,83 <sup>k</sup>
200	84,26/0,68 <sup>l</sup>	85,01/0,69 <sup>l</sup>	85,28/0,65 <sup>l</sup>
<b>Concentración inhibitoria media (IC<sub>50</sub>)</b>			
	91,88/10,24 <sup>m</sup>	50,21/6,50 <sup>n</sup>	57,11/8,58 <sup>n</sup>
Se indica la media (n=3) ± desviación estándar (DE). Letras diferentes en una fila indica diferencias significativas y letras iguales que no existen diferencias significativas, a una misma concentración (p≤ 0,05), según el test de comparación múltiple de <i>Tukey</i>			

**Fuente:** Autores

Un aspecto importante por considerar es la determinación de la IC<sub>50</sub> (valor de concentración al cual se alcanza el 50 % de inhibición del efecto máximo de secuestro de DPPH). En este sentido, el extracto manifestó buena actividad antirradicalaria, aunque la mayor actividad fue para la vitamina C con el menor valor de IC<sub>50</sub>. En la figura 14 se muestran las curvas de concentración-respuesta de la prueba DPPH.



**Figura 14.** Curvas de concentración-respuesta de la prueba DPPH,

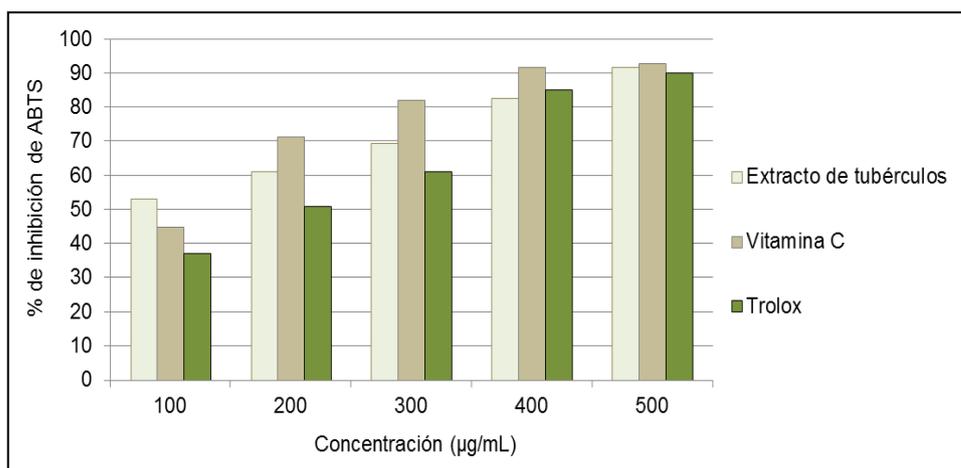
(a) Extracto, (b) Vitamina C, (c) Trolox.

**Fuente:** Autores

#### IV.2.3 Ensayo del ABTS•+ (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico)

Durante el desarrollo de este método, se observó una decoloración del radical catiónico ABTS•+ a todas las concentraciones evaluadas, debido a la capacidad del extracto y las sustancias de referencia de neutralizar dicho radical, esto se ve reflejado en un descenso de absorbancia y una disminución del color azul-verde intenso hasta su decoloración.

En la figura 15 se muestra un gráfico de % de inhibición del radical ABTS•+ contra concentración del extracto y las sustancias de referencias evaluadas. Existe una tendencia al aumento de la capacidad de inhibición de dicho radical a medida que aumenta la concentración.



**Figura 15.** Comportamiento de la capacidad secuestradora del radical ABTS del extracto de tubérculos y las sustancias de referencia.

**Fuente:** Autores

En la tabla VIII se presentan los porcentajes de inhibición del radical ABTS y se apreciaron diferencias significativas entre todas las muestras ensayadas. El extracto evidenció a la mínima concentración (100 µg/mL) una capacidad de secuestro superior al 50%, incluso superior, a las mismas concentraciones evaluadas para las dos sustancias de referencia. A las concentraciones de 200,

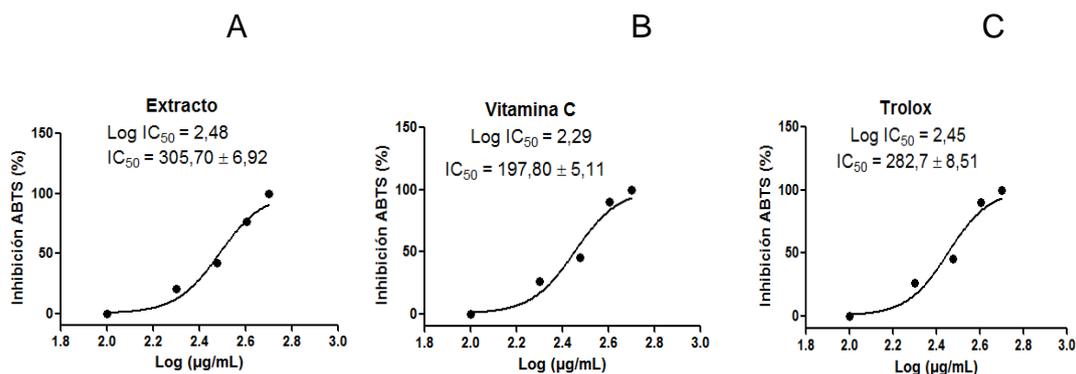
300 y 500 µg/mL el extracto manifestó mayor porcentaje de inhibición que el Trolox.

**Tabla VIII.** Capacidad secuestradora del radical ABTS●+ del extracto etanólico de rizomas y las sustancias de referencia.

Concentración n µg/mL	Porcentaje de secuestro del radical ABTS●+ (%) ± DE		
	Extracto	Vitamina C	Trolox
<b>100</b>	53,22/1,11 <sup>a</sup>	44,86/0,72 <sup>b</sup>	37,13/1,16 <sup>c</sup>
<b>200</b>	61,10/1,31 <sup>d</sup>	71,44/0,62 <sup>e</sup>	51,09/0,76 <sup>f</sup>
<b>300</b>	69,42/1,10 <sup>g</sup>	82,25/0,39 <sup>h</sup>	61,25/0,77 <sup>i</sup>
<b>400</b>	82,69/0,92 <sup>j</sup>	91,67/1,06 <sup>k</sup>	85,11/0,87 <sup>l</sup>
<b>500</b>	91,82/0,59 <sup>m</sup>	92,99/0,59 <sup>n</sup>	90,20/0,84 <sup>o</sup>
<b>Concentración inhibitoria media IC<sub>50</sub></b>			
	<b>305,70/6,92<sup>a</sup></b>	<b>197,80/5,11<sup>b</sup></b>	<b>282,70/8,51<sup>c</sup></b>
Se indica la media (n=3) ± desviación estándar (DE). Letras diferentes en una fila indica diferencias significativas y letras iguales que no existen diferencias significativas, a una misma concentración (p≤ 0,05), según el test de comparación múltiple de <i>Tukey</i>			

**Fuente:** Autores

De las muestras evaluadas, la que presentó menor IC<sub>50</sub> (valor de concentración al cual se alcanza el 50 % de inhibición del efecto máximo de secuestro de ABTS) y por tanto mayor actividad antioxidante, fue la vitamina C. No obstante, el extracto a una concentración de 305,70 µg/mL, logró inhibir el 50% del radical, manifestando también actividad antirradicalaria. En la figura 16 se muestran las curvas de concentración-respuesta de la prueba ABTS.



**Figura 16.** Curvas de concentración-respuesta de la prueba ABTS.

**Fuente:** Autores

### IV.3 Discusión

Según un estudio de Clarke, una amplia variedad de ensayos se utiliza para determinar la actividad antioxidante de los extractos de plantas, algunos se basan en la eliminación de ciertos radicales como el ensayo de DPPH y ABTS y otro como el ensayo de FRAP mide el potencial de actividad de reducción férrica. Si bien es cierto la deducción de Clarke, en el presente estudio se realizó los dos ensayos, pero evaluando la característica inherente de cada uno, es decir, en el ensayo DPPH evalúa la capacidad secuestradora del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo, mientras que el ensayo FRAP evalúa la actividad ferro-reductora. Es cierto que las dos actividades antes mencionadas son parte indiscutible de la actividad antioxidante, y es cierto también que ambos resultados arrojaron valores muy similares, pero gracias a esto se pudo comprobar la teoría de Clarke.

Por otra parte, un estudio realizado por Marta Kuskoski indica que, los métodos ABTS y DPPH se correlacionan entre si ya que se basan en una de las estrategias más aplicadas en la medida *in vitro* de la capacidad antioxidante total de un compuesto, mezcla o alimento, la cual consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical, por lo que el cambio de la intensidad del color ocurre de forma proporcional con la concentración de antioxidantes de la muestra (59). Kuskoski demostró en su

artículo que los métodos ABTS y DPPH arrojan datos idénticos cuando la muestra contiene antocianinas, si la muestra carece de estos metabolitos el coeficiente  $r^2$  disminuye a 0,595 demostrando también que en el segundo caso, la metodología más acertada a utilizar es la DPPH. En el presente estudio también se quiso corroborar esta información, aunque en este caso los valores de  $r^2$  para ambas metodologías dieron un valor de 0,99.

Una tesis presentada por Mero y Muñoz graduadas de la Universidad de Guayaquil, indica los resultados de un estudio previo farmacognóstico y fitoquímico preliminar de *S purhampuy* el cual indica la presencia de quinonas, flavonoides, compuestos fenólicos y antocianinas demostrando en efecto que la planta posee actividad antioxidante y confirmando la teoría de Kuskoski al demostrar la presencia de antocianinas (52).

Por último, un estudio de Parrales y Villamar de la Universidad de Guayaquil, aseguran que las hojas de *S purhampuy R.* contienen una moderada actividad antioxidante, pero es claro recalcar que mediante este estudio se demostró que existe más actividad antioxidante en el rizoma que en las hojas de la planta en cuestión (54).

#### **Método FRAP:**

Los valores obtenidos en la determinación de la actividad antioxidante por el método FRAP permitió constar valores elevados de  $\mu\text{M}$  equivalentes de  $\text{FeSO}_4$  y  $\mu\text{M}$  equivalentes de ácido ascórbico a medida que aumentaba la concentración, lo cual confirma un aumento en el poder reductor del extracto y por tanto un aumento en la capacidad antioxidante por este ensayo. No se han encontrado estudios de la especie vegetal Zarzaparrilla utilizando este método FRAP (capacidad ferro-reductora), por lo que fue de esta manera el interés en realizar esta investigación sobre esta especie.

### **Método ABTS:**

Una de las variables analizadas en el ensayo de ABTS es el cálculo de la concentración inhibitoria media (IC50). Para el extracto de rizomas se obtuvo un valor de IC50=305,70 µg/mL y para la vitamina C y el Trolox 197,80 y 282,70 µg/mL, respectivamente; por tanto, quien presento mayor capacidad antioxidante fue la vitamina C con el menor valor. No obstante, el extracto también evidenció una capacidad de secuestro superior al 50%, incluso, superior al Trolox en casi todas las concentraciones evaluadas.

No se han encontrado estudios de la especie vegetal Zarzaparrilla utilizando este ensayo ABTS, por lo que fue de esta manera el interés en realizar esta investigación sobre esta especie.

### **Método DPPH:**

El valor obtenido en la determinación de la actividad antioxidante empleadas en el rizoma del Realizado por el método de secuestro de radicales DPPH expresados en % de inhibición, siendo nuestro valor un porcentaje de inhibición que osciló entre 43,95 y 84,26 obteniendo un valor que alcanza más del 50% del efecto máximo de secuestro del DPPH, a comparación con otros estudios como el de (65) aplicando el método de DPPH en los rizomas de la Zarzaparrilla (*Smilax domingensis willd.*) obteniendo un valor de 91.08% expresado en porcentaje de inhibición.

**Tabla IX.** Comparación de actividad antioxidante de los tres métodos *in vitro* por diferentes autores.

<b>NOMBRES</b>	<b>VALORES</b>	<b>METODO</b>	<b>POTENCIAL ANTIOXIDANTE</b>
Autores	84 %	DPPH (IC <sub>50</sub> )	Alta
(65)	91,08%	DPPH (% Inhibición)	Alta
Autores	305,70 µg/mL	ABTS (IC <sub>50</sub> )	Alta
Autores	672,13 µg/mL	FRAP (µM equivalentes de FeSO <sub>4</sub> )	Alta
Autores	749,88 µg/mL	FRAP (µM equivalentes de Ac ascórbico)	Alta

**Fuente:** Autores

El potencial antioxidante del método DPPH fue alto al ser comparado con dos sustancias patrones las cuales fueron el trolox y la vitamina C en su máxima concentración el extracto etanólico de rizomas. dieron un valor similar a las sustancias de referencia obteniendo una concentración inhibitoria media (IC<sub>50</sub>) del extracto 91,88; (IC<sub>50</sub>) de la vitamina C 50,21; (IC<sub>50</sub>) del trolox 57,11.

El potencial antioxidante del ensayo del ABTS fue alto al ser comparado con dos sustancias patrones las cuales fueron el trolox y la vitamina C en su máxima concentración el extracto etanólico de rizomas. dieron un valor similar a las sustancias de referencia obteniendo una concentración inhibitoria media (IC<sub>50</sub>) del extracto 305,70; (IC<sub>50</sub>) de la vitamina C 197,80; (IC<sub>50</sub>) del trolox 282,70. Lo que logro inhibir el 50% del radical, manifestando una actividad antioxidante alta".

El potencial antioxidante del método FRAP (capacidad ferro-reductora) fue alto, debido a que se traduce en altos valores de  $\mu\text{M}$  equivalentes expresados en las sustancias de referencias ensayada, lográndose en todas las concentraciones ensayadas del extracto etanólico valores superiores (en equivalentes de ácido ascórbico y  $\text{FeSO}_4$ )  $\mu\text{M}$  equivalentes de ácido ascórbico 749,88  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y  $\mu\text{M}$  equivalentes de  $\text{FeSO}_4$  de 672,13.

## CONCLUSIONES

- El efecto antioxidante del extracto del rizoma del *S. purhampuy R.* determinado por distintos métodos *in vitro* se atribuyó a la presencia de compuestos fenólicos en los extractos del rizoma.
- El extracto de *S. purhampuy R.* presentó 2,73 mg/mL de fenoles totales expresados en ácido gálico y 0,55 mg/mL de flavonoides totales, los cuales pudieran estar relacionados con la actividad antioxidante, mediante la técnica de espectrofotometría UV/Vis.
- Teniendo en consideración los resultados de los tres métodos *in vitro* ensayados se pudo constatar que a medida que aumentaba la concentración del extracto, aumentaba el poder reductor (ensayo FRAP) y la actividad antirradicalaria (ensayos DPPH y ABTS) del mismo, manifestándose una elevada actividad antioxidante. En los ensayos de DPPH y ABTS el extracto a determinadas concentraciones mostró un comportamiento similar a la vitamina C y Trolox, incluso superior a este último patrón ensayado.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar rizomas en buen estado y frescos para evitar datos erróneos en la determinación de sus metabolitos.
- Efectuar futuras investigaciones utilizando otras partes de la planta para determinar polifenoles y actividad antioxidante de esta especie vegetal.
- Realizar estudios de Polifenoles Totales y Actividad Antioxidante en el rizoma de *S. purhampuy R.* con diferentes extractos como el metanólico, clorofórmico, acuoso y en éter.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Coronado H. M, Vega Y León S, Gutiérrez T. R, Marcela VF, Radilla V. C. Antioxidantes: Perspectiva actual para la salud humana. Rev Chil Nutr. 2015;42(2):206–12.
2. Dontha S. A review on antioxidant methods. Asian J Pharm Clin Res. 2016;9(2):14–32.
3. da Silva MCA, Paiva SR. Antioxidant activity and flavonoid content of *Clusia fluminensis* Planch. & Triana. An Acad Bras Cienc. 2012;84(3):609–16.
4. Song FL, Gan RY, Zhang Y, Xiao Q, Kuang L, Li H Bin. Total phenolic contents and antioxidant capacities of selected chinese medicinal plants. Int J Mol Sci. 2010;11(6):2362–72.
5. Szollosi R, Szollosi Varga I. Total antioxidant power in some species of Labiatae (Adaptation of FRAP method). Acta Biol Szeged. 2002;46(3–4):125–7.
6. Zubair M, Rizwan K, Rashid U, Saeed R, Saeed AA, Rasool N, et al. GC/MS profiling, *in vitro* antioxidant, antimicrobial and haemolytic activities of *Smilax macrophylla* leaves. Arab J Chem [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2019 Aug 22];10:S1460–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535213001135>
7. Zeng Y, Deng M, Lv Z, Peng Y. Evaluation of antioxidant activities of extracts from 19 Chinese edible flowers. Springerplus. 2014;3(1):1–5.
8. Carbonel Villanueva KN, Suárez Cunza S, Arnao Salas AI. Características físicoquímicas y capacidad antioxidante *in vitro* del extracto de *Gentianella nitida*. An la Fac Med. 2016;77(4):333.
9. Molina-Quijada DMA, Medina-Juárez LA, González-Aguilar GA, Robles-Sánchez RM, Gámez-Meza N. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de cáscara de uva (*Vitis vinifera* L.) de mesa cultivada en el noroeste de México Phenolic compounds and antioxidant activity of table grape (*Vitis vinifera* L.) skin from northwest Mexico. CYTA - J Food. 2010;8(1):57–63.

10. Fonseca JC, Barbosa MA, Silva ICA, Duarte-Almeida JM, Castro AHF, dos Santos Lima LAR. Antioxidant and allelopathic activities of *Smilax brasiliensis* Sprengel (Smilacaceae). *South African J Bot* [Internet]. 2017 Jul 1 [cited 2019 Aug 22];111:336–40. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629916341837>
11. Romo-Pérez A, Escandón-Rivera SM, Andrade-Cetto A. Chronic hypoglycemic effect and phytochemical composition of *Smilax moranensis* roots. *Rev Bras Farmacogn* [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2019 Aug 22];29(2):246–53. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X1830379X>
12. Cáceres A, Cruz SM, Martínez V, Gaitán I, Santizo A, Gattuso S, et al. Ethnobotanical, pharmacognostical, pharmacological and phytochemical studies on *Smilax domingensis* in Guatemala. *Rev Bras Farmacogn Brazilian J Pharmacogn*. 22(2):239–48.
13. Arguello Melendres D. Determinación espectrofotométrica de la capacidad antioxidante del propóleo mediante el método DPPH. 2013;76. Available from: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/3434/1/1092.pdf>
14. Denk T, Velitzelos D, Güner HT, Ferrufino-Acosta L. *Smilax* (Smilacaceae) from the miocene of western Eurasia with Caribbean biogeographic affinities. *Am J Bot*. 2015;102(3):423–38.
15. Aracelly A, Cruz P, Lilibeth J, Leon V. Trabajo de titulación presentado como requisito previo para optar por el grado de químicas farmacéuticas autoras.
16. Facultad de ciencias químicas carrera química y farmacia "estudio farmacognóstico y fitoquímico.
17. (PDF) Diversidad, distribución e importancia económica de *Smilax* (Smilacaceae) de Guatemala.
18. FERRUFINO-ACOSTA L. Revisión taxonómica del género *Smilax* (Smilacaceae) en América Central y las Islas del Caribe. *Willdenowia*. Botanischer Garten und Botanisches Museum, Berlín-Dahlem; 2010.
19. Argandoña M, Carolina A, Pilar TQF, Cañarte S. Universidad de guayaquil carrera química y farmacia modalidad: investigación tema “ estudio

farmacognóstico y fitoquímico preliminar del rizoma de smilax purhampuy r . ”  
químico y farmacéutico muñoz valverde katty ximena asesora externa : Lcda .  
MIGDALIA. 2020;

20. Schmid R, Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ, et al. Plant Systematics: A Phylogenetic Approach Photo Gallery of Vascular Plants. *Taxon*. 2007 Nov;56(4):1316.

21. Ferrufino-Acosta L. Taxonomic revision of the genus *Smilax* (Smilacaceae) in Central America and the Caribbean Islands . *Willdenowia*. 2010 Dec;40(2):227–80.

22. Guambo Delgado DM. Identificación de los metabolitos secundarios de la raíz de zarzaparrilla (*smilax aspera*), para la elaboración de una bebida. *Univ Nac del Chimborazo*. 2016;1:72.

23. Memorias congreso nacional de ciencias biológicas.

24. Bown D, Herb Society of America. *Encyclopedia of herbs & their uses*. Dorling Kindersley; 1995. 424 p.

25. Cala M, Stashenko E, Vásquez A, Martínez Morales J, Miranda I, Tafurt Garcia G. Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de salvia aratocensis, salvia sochensis, bidens reptons y montanoa ovalifolia. *Sci Tech*. 2007;1(33):205–7.

26. Iribarren,Paula,Maugeri D. Química Biológica Trabajo De Laboratorio. 2017;1–9. Available from:  
<http://www.iib.unsam.edu.ar/archivos/docencia/licenciatura/biotecnologia/2017/QuimicaBiol/1489768358.pdf>

27. Muñoz-Bernal ÓA, Torres-Aguirre GA, Núñez-Gastélum JA, de la Rosa LA, Rodrigo-García J, Ayala-Zavala JF, et al. Nuevo Acercamiento a La Interacción Del Reactivo De Folin-Ciocalteu Con Azúcares Durante La Cuantificación De Polifenoles Totales. *Tip*. 2017;20(2):23–8.

28. Palomino G LR, García P CM, Gil G JH, Rojano BA, Durango R DL. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia). *Vitae*. 2009;16(3):388–95.

29. Kumazawa S, Taniguchi M, Suzuki Y, Shimura M, Kwon MS, Nakayama T. Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *J Agric Food Chem*. 2002;50(2):373–7.
30. Pardo-Jumbo A, Matute N-L, Echavarria A-P. Determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de la pulpa de maracuyá (*passiflora edulis*). *FACSalud Unemi [Internet]*. 2018;1(1):5–11. Available from: <http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/facsalud-unemi/article/download/538/450>
31. Stämpfli R, Brühwiler P, Mourad S, Verdejo R, Shaffer M. Development and characterisation of carbon nanotube-reinforced polyurethane foams. *EMPA Act*. 2007;26(2007):51.
32. Londoño JL, Químico Farmacéuti-Co P. Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad PARTE III / PART III. :129–62.
33. Csepregi K, Neugart S, Schreiner M, Hideg É. Comparative evaluation of total antioxidant capacities of plant polyphenols. *Molecules*. 2016;21(2):1–17.
34. Afsar T, Razak S, Shabbir M, Khan MR. Antioxidant activity of polyphenolic compounds isolated from ethyl-acetate fraction of *Acacia hydaspica* R. Parker. *Chem Cent J [Internet]*. 2018;12(1):1–13. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0373-x>
35. Aydın S, Demir Gökışık C. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant capacity of home-made Isabella grape (*Vitis labrusca* L.) vinegar. *Int J Chem Technol*. 2019;3(1):11–6.
36. Kedare SB, Singh RP. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol*. 2011;48(4):412–22.
37. Saral Ö, Yıldız O, Aliyazicioğlu R, Yuluğ E, Canpolat S, Öztürk F, et al. Apitherapy products enhance the recovery of CCL4-induced hepatic damages in rats. *Turkish J Med Sci*. 2016;46(1):194–202.
38. Godic A, Poljšak B, Adamic M, Dahmane R. The role of antioxidants in skin cancer prevention and treatment. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014.
39. Medina V. Estrés oxidativo y antioxidantes. *Rev Argentina Cienc*. 2012;5(2):1–3.

40. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp organo Of la Soc Espa??ola Nutr Parenter y Enter.* 2012;27(1):76–89.

41. Doroteo VH, Díaz C, Terry C, Rojas R. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas. *Rev la Soc Química del Perú [Internet].* 2013 [cited 2019 Dec 19];79(1):13–20. Available from: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2013000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2013000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

42. Valencia E, Ignacio I, Aviles E, Bartolomé M, Martínez H, García M. Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas Polyphenols: antioxidant and toxicological properties. *Rev la Fac Ciencias Químicas Cuenca [Internet].* 2017;16:15–29. Available from: [http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/29781/1/2\\_1583-4794-2-PB.pdf](http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/29781/1/2_1583-4794-2-PB.pdf)

43. Tomás F-Barberan A. Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Aliment Nutr y salud.* 2015;10(2):41–53.

44. Osmany Cuesta R, Ingrid Márquez H MCF. Introducción a la Caracterización Estructural de Flavonoides. 2015. 82 p.

45. Kozłowska A, Przekop D, Szostak-węgierek D. ARTÍCULO ORIGINAL FLAVONOIDES ENTRADA DE ENTRE ESTUDIANTES polaco y español. 2015;

46. Reyes R, Guillermo S, Edmundo VC, Lissette HA. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE in vitro DE LOS FLAVONOIDES TOTALES OBTENIDOS DE LAS HOJAS DE Sambucus peruviana H.B.K. (SAUCO) PROVENIENTE DE LA CIUDAD DE HUAMACHUCO. *Pharmaciencia.* 2014;1(2):57–64.

47. Peralta M, Cabrera JL, Perez C. Flavonoides prenilados como potenciales componentes de medicamentos Peralta M A 1; Cabrera J L 1; Pérez C 2 \*. 2013;(April 2017).

48. Alcaide Molina AJ. Caracterizacion de polifenoles y su accion sobre sirtuinas en modelos de inflamacion intestinal y cancer. [Internet]. 2015. Available from: <http://hdl.handle.net/11441/68135>

49. Chandrasekara A, Shahidi F. Content of insoluble bound phenolics in

millets and their contribution to antioxidant capacity. *J Agric Food Chem*. 2010;58(11):6706–14.

50. Pezzuto JM. Resveratrol: Twenty years of growth, development and controversy. *Biomol Ther*. 2019;27(1):1–14.

51. Agatonovic-Kustrin S, Hettiarachchi CG, Morton DW, Razic S. Analysis of phenolics in wine by high performance thin-layer chromatography with gradient elution and high resolution plate imaging. *J Pharm Biomed Anal* [Internet]. 2015;102:93–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2014.08.031>

52. Porrás-Loaiza AP L-MA. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos [Internet]. Vol. 3, *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. 2009. p. 121–34. Available from: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Porrás-Loaiza-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Porrás-Loaiza-et-al-2009.pdf)

53. Adolphe JL, Whiting SJ, Juurlink BHJ, Thorpe LU, Alcorn J. Health effects with consumption of the flax lignan secoisolariciresinol diglucoside. *Br J Nutr*. 2010;103(7):929–38.

54. Sánchez-Fidalgo S, Cárdeno A, Sánchez-Hidalgo M, Aparicio-Soto M, De la Lastra CA. Dietary extra virgin olive oil polyphenols supplementation modulates DSS-induced chronic colitis in mice. *J Nutr Biochem* [Internet]. 2013;24(7):1401–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.11.008>

55. Farmacia FDE. Departamento de Nutrición y Bromatología II. Departamento de Nutrición y Bromatología II. 2018;

56. Lizárraga-Velázquez CE, Hernández C, González-Aguilar GA, Basilio-Heredia J. Propiedades antioxidantes e inmunoestimulantes de polifenoles en peces carnívoros de cultivo. *CienciaUAT*. 2018;12(2):127.

57. Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African J Biotechnol*. 2006;5(11):1142–5.

58. Chlopicka J, Pasko P, Gorinstein S, Jedryas A, Zagrodzki P. Total phenolic and total flavonoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of pseudocereal breads. *LWT - Food Sci Technol* [Internet]. 2012;46(2):548–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.11.009>

59. Roth J V. Prediction interval analysis is underutilized and can be more helpful than just confidence interval analysis. *J Clin Monit Comput.* 2009;23(3):181–3.

60. Wilbert JKW, WANG Y-P, HE M-Y, LI L-K, Wang D, Li X, et al. DETERMINACION DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE HOJAS DE *Diplostegium phylloides* (kunuth) Wedd. *J Knowl Manag [Internet]*. 2016;2(2):1–18. Available from: <http://www.waset.org/publications/11070><http://btd.egc.ufsc.br/><http://dx.doi.org/10.1016/j.jdmm.2015.12.005><https://portal.aenormas.aenor.com/revista/pdf/abr16/10abr16.pdf><http://dx.doi.org/10.1016/j.sbspro.2014.07.296><https://pdfs.semanticscho>

61. Zheleva-Dimitrova DZ. Antioxidant and acetylcholinesterase inhibition properties of *Amorpha fruticosa* L. and *Phytolacca americana* L. *Pharmacogn Mag.* 2013;9(34):109–13.

62. Oro JRD, Donnamaría MC. Acción farmacológica, biofísicoquímica y estructura dinámica de la vitamina C. *Acta Farm Bonaer.* 2006;25(1):145–54.

63. Ayán Álvarez A. Estudio comparativo de la actividad antioxidante en fresas de cultivos de origen tradicional versus ecológico. *Fin Grado.* 2016;32.

64. Azlim Almey AA, Ahmed Jalal Khan C, Syed Zahir I, Mustapha Suleiman K, Aisyah MR, Kamarul Rahim K. Total phenolic content and primary antioxidant activity of methanolic and ethanolic extracts of aromatic plants' leaves. *Int Food Res J.* 2010;17(4):1077–84.

65. Muhammad yogi angga hutama siregar. determinación de componentes y capacidad antioxidante mediante gc/ms del extracto de zarzaparrilla (*Smilax domingensis* Willd.) y elaboración de bebida de zarzaparrilla nutracéutica. *Implement Sci* [Internet]. 2014;39(1):1–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2015.03.025><http://dx.doi.org/10.1038/nature10402><http://dx.doi.org/10.1038/nature21059><http://journal.stainkudus.ac.id/index.php/equilibrium/article/view/1268/1127><http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2577><http://>

## GLOSARIO

**Glabra:** La epidermis que carece de tricomas se denomina glabra. Es un adjetivo usado para describir una característica morfológica como liso, brillante, no teniendo ningún pelo o cerdas o glauco.

**Lianas:** Planta tropical sarmentosa de tallos largos y delgados que trepa por los árboles hasta las zonas altas en las cuales se ramifica.

**Axilares:** Ángulo superior que forma la unión de una rama, hoja o bráctea con el eje de un tallo.

**Bejucos:** Nombre genérico con que se designa a diversas especies de plantas tropicales de tallos largos, delgados y flexibles que se utilizan en la elaboración de tejidos de cestería y fabricación de muebles y cuerdas.

**Bayas:** Se denomina baya a cualquier fruto, monocárpico o sincárpico, con el epicarpo generalmente muy delgado y el mesocarpo y el endocarpo carnosos y más o menos jugosos. Por lo común tienen forma redondeada o elipsoidal y, a menudo, llamativos colores.

**Sesquiterpénicas:** Son un tipo de compuesto químico terpenoide presente en algunos taxones de plantas.

**Rizoma:** Es un tallo que se encuentra por debajo del nivel del suelo que crece de forma horizontal emitiendo raíces que se dirigirán hacia abajo y brotes que saldrán desde los nudos hacia arriba.

**DPPH:** Es un radical libre que se puede obtener directamente disolviendo el reactivo en un medio orgánico, consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante.

**Antioxidante:** Es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas, la oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante.

**Radical libre:** Es una molécula que se produce cada día en nuestro organismo como resultado de las reacciones biológicas que se producen en las células.

**In vitro:** Se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera del organismo vivo.

**Polifenoles:** Son un grupo de sustancias químicas encontradas en plantas caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula, con potentes propiedades antioxidantes.

**Flavonoides:** Son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes.

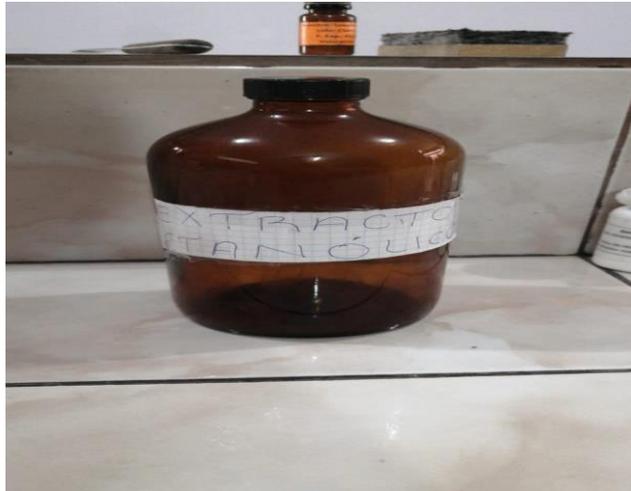
**Estrés oxidativo:** Es una afectación que es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad de un sistema biológico de decodificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante.

**Hidrocarburos aromáticos:** Son hidrocarburos cíclicos, llamados así debido al fuerte aroma que caracteriza a la mayoría de ellos, se consideran compuestos derivados del benceno, pues la estructura cíclica del benceno se encuentra presente en todos los compuestos aromáticos.

**Curva de calibración:** Es un método muy utilizado en química analítica para determinar la concentración de una sustancia (analito) en una muestra desconocida, sobre todo en disoluciones, el método se basa en la relación proporcional entre la concentración y una determinada señal analítica(propiedad).

## ANEXOS

### **Anexo A.** Extracto etanólico



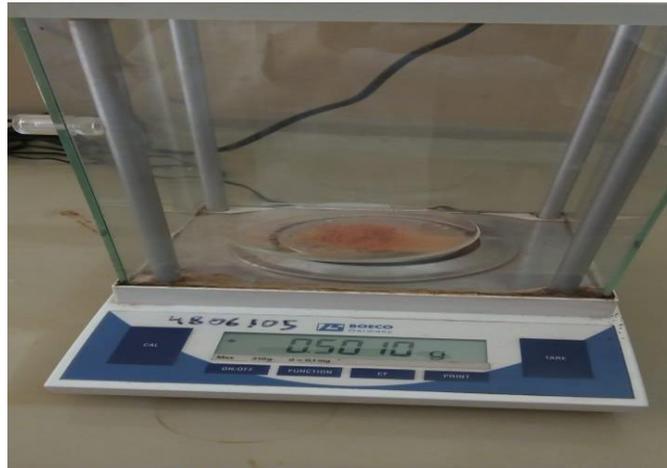
**Fuente:** Autores

### **Anexo B.** Muestra en polvo del rizoma *Smilax purhampuy R.*



**Fuente:** Autores

**Anexo C.** Pesado de la muestra



**Fuente:** Autores

**Anexo D.** Preparación del extracto



**Fuente:** Autores