



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



TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO PREVIO A LA
OBTENCIÓN AL GRADO DE QUÍMICAS Y FARMACEÚTICAS

MODALIDAD:

INVESTIGACIÓN

TEMA:

“Evaluación de polifenoles totales, actividad antioxidante y α -glucosidasa en extractos de corteza de *Cassia grandis* L.f. (caña fístula)”

AUTORES:

MORALES ANDRADE GENESIS GRACIELA

PAREDES ARELLANO EMILY MAGALY

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

CIENCIAS BÁSICAS, BIOCONOCIMIENTO Y DESARROLLO INDUSTRIAL

SUBLÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

CIENCIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

TUTORA:

DRA. ALEXANDRA QUESADA DELGADO, Mg.

CO-TUTORA:

Q.F. MARIA DEL CARMEN VILLACRES CEVALLOS, Ph.D

GUAYAQUIL – ECUADOR

2020



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
Secretaría Nacional de Educación Superior,
Ciencia, Tecnología e Innovación

FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE GRADUACIÓN		
TÍTULO Y SUBTÍTULO:	EVALUACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y A-GLUCOSIDASA EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE <i>Cassia Grandis</i> L.f. (CAÑA FISTULA)	
AUTOR (ES) (Apellidos/Nombres):	Morales Andrade Genesis Graciela Paredes Arellano Emily Magaly	
DOCENTE TUTOR Y DOCENTE REVISOR (Apellidos/Nombres):	Dra. Q.F Alexandra Quesada (Tutora) Dra Q.F Zoila Luna Estrella (Revisora)	
INSTITUCIÓN:	Universidad de Guayaquil	
UNIDAD/FACULTAD:	Ciencias Químicas	
MAESTRÍA/ESPECIALIDAD:		
GRADO OBTENIDO:	Tercer Nivel / Químicas y Farmacéuticas	
FECHA DE PUBLICACIÓN:	No. DE PÁGINAS:	62
ÁREAS TEMÁTICAS:	INVESTIGACIÓN	
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	<i>Cassia Grandis</i> L.f., Polifenoles Totales, Actividad Antioxidante, Alfa-glucosidasa.	
RESUMEN/ABSTRACT		
<p>La <i>Cassia grandis</i> L.f conocida como caña fistula en Ecuador perteneciente a la familia Fabaceae es una planta que ha sido usada y aprovechada tradicionalmente para tratar enfermedades respiratorias, hepáticas, anémicas, entre otras. Actualmente existe una tendencia sobre el consumo de productos de origen vegetal como ayuda para el control de la diabetes tipo 2. Se recolectaron en el cantón Milagro provincia del Guayas 2 kilogramos de cortezas de la especie <i>Cassia grandis</i> L.f. durante los meses de octubre a noviembre del 2019. El análisis de sólidos totales indicó 2.63 % en el extracto etanólico y 2.50% en el extracto acuoso. Se trabajó con el extracto acuoso y etanólico de la corteza de esta planta, los cuales se sometieron a pruebas de Folin-Ciocalteu y se obtuvo como resultado para Polifenoles Totales con mayor porcentaje en extracto acuoso 83.96% y extracto etanólico 74.10%. La Actividad Antioxidante se determinó por 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y dio como resultado en extracto etanólico Ácido Gálico 0.11 mg/ml, Ácido Ascórbico 0.39 mg/ml y en extracto acuoso Ácido Gálico 0.12mg/ml, y Ácido Ascórbico 0.45 mg/ml. Además, se evaluó in vitro la actividad inhibitoria de la enzima α- glucosidasa presentando para el extracto etanólico 47.91% y el extracto acuoso 50.03%. Estos hallazgos darían lugar a nuevas investigaciones para elaboración de productos farmacéuticos con el objetivo de ayudar en el tratamiento de la diabetes.</p>		
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: 0985283325 Teléfono: 0995772419	E-mail: genesis.moralesa@ug.edu.ec E-mail: emily.paredesa@ug.edu.ec
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:	Nombre: FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS	
	Teléfono: (04) 2293680	
	E-mail: www.fcq.ug.edu.ec	



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 06 de marzo 2020.

MARIANITA DE JESÚS RENDÓN MARISCAL, M.Sc.
VICEDECANA
FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad. -

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación **EVALUACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y A-GLUCOSIDASA EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE *Cassia grandis* L.f. (CAÑA FÍSTULA)**” de las estudiantes **GENESIS GRACIELA MORALES ANDRADE Y EMILY MAGALY PAREDES ARELLANO**, indicando que han 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 los estudiantes están aptos para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente

Dra. ALEXANDRA QUESADA DELGADO, Mg.
C.I. 1202485304



Universidad de Guayaquil

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



Guayaquil, 06 de marzo 2020.

Sra.

ZOILA LUNA ESTRELLA

VICEDECANA

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 “**EVALUACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y A-GLUCOSIDASA EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE *Cassia grandis* L.f. (CAÑA FÍSTULA)**” de las estudiantes, **MORALES ANDRADE GENESIS GRACIELA y PAREDES ARELLANO EMILY MAGALY.**

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 18 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 10 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.

Atentamente


Dra. Q.F. Zoila Luna Estrella Mgs
C.I. 0907681795



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrada Dra. Alexandra Quesada Delgado Mg, tutora del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por **GENESIS GRACIELA MORALES ANDRADE y EMILY MAGALY PAREDES ARELLANO**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Químicas y Farmacéuticas .

Se informa que el trabajo de titulación: **EVALUACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y A-GLUCOSIDASA EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE *Cassia grandis* L.f. (CAÑA FÍSTULA)**”, ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa antiplagio (URKUND) quedando el 5% de coincidencia.

The screenshot shows the URKUND interface with the following details:

- Documento:** TESIS Cassia grandis-Emily Paredes-Genesis Morales.URKUND.docx (D64920966)
- Presentado por:** Alexandra Quesada (alexandra.quesada@ug.edu.ec)
- Presentado el:** 2020-03-05 16:48 (-05:00)
- Recibido por:** campoverdemj ug@analysis.urkund.com
- Mensaje:** TESIS CAÑA FÍSTULA. 5% de estas 15 páginas, se componen de texto presente en 3 fuentes.
- Lista de fuentes:**
 - CHURCO-CASTILLO Y VINUEZA.docx
 - ZEJA MAYS.docx
 - HOJAS ARTHROSTEMMA CILIATUM CHIQUITO LAINEZ.docx
- Similitud:** 91%
- Archivo de registro:** UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL / CHURCO-CASTILLO Y VINUEZA.docx

<https://secure.urkund.com/old/view/62946740-713774-994993#q1bKLVayijYy1TG21DEx1jE11jEz1LGM1VEqzkyPy0zLTE7MS05VsjLQMzAxtDQ2srQwNDQysDQyMjQ1rQUA>

Dra. ALEXANDRA QUESADA DELGADO, Mg.
C.I. 1202485304

URKUND

Urkund Analysis Result

Analysed Document: TESIS Cassia grandis- Emily Paredes - Genesis Morales.
URKUND.docx (D64920966)
Submitted: 3/5/2020 10:48:00 PM
Submitted By: alexandra.quesadad@ug.edu.ec
Significance: 5 %

Sources included in the report:

ZEA MAYS.docx (D64736074)
HOJAS ARTHROSTEMMA CILIATUM CHIQUITO.LAINEZ.docx (D64500154)
CHURCO- CASTILLO Y VINUEZA.docx (D54748819)

Instances where selected sources appear:

6

Dra Quesada
6 Marzo 2020





FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 06 de marzo 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 **“EVALUACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y A-GLUCOSIDASA EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE *Cassia grandis* L.f. (CAÑA FÍSTULA)”**, presentado por **GENESIS GRACIELA MORALES ANDRADE**, con C.I. No. **0953412343** y **EMILY MAGALY PAREDES ARELLANO**, con C.I. No. **09552528701** previo a la obtención del título de Químicas y Farmacéuticas.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de antiplagio del programa URKUND, quedando el **5%** de coincidencia. Lo Certifico:

Dra. ALEXANDRA QUESADA DELGADO, Mg.
C.I. 1202485304



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 11 de junio 2020

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrado **DRA. Q.F. ZOILA LUNA ESTRELLA, MgS.**, tutor revisor del trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y A-GLUCOSIDASA EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE *Cassia grandis* L.f. (CAÑA FÍSTULA)”**, certifico que el presente trabajo de titulación, elaborado por **GENESIS GRACIELA MORALES ANDRADE, con C.I. No. 0953412343** y **EMILY MAGALY PAREDES ARELLANO, con C.I. No. 0952528701** con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Químicas y Farmacéuticas, 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.



Dra. Q.F. ZOILA LUNA ESTRELLA, MgS.

C.I. 0907681795



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



CERTIFICADO DEL TRIBUNAL

El tribunal de Sustentación del Trabajo de Titulación de las señoritas **GENESIS GRACIELA MORALES ANDRADE Y EMILY MAGALY PAREDES ARELLANO**, después de ser examinados en su presentación, memoria científica y defensa oral, da por aprobado el Trabajo de Titulación.

**DRA. Q.F. ZOILA LUNA ESTRELLA, MgS.
PRESIDENTE- MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

**Q.F LAURA VALDEZ LOPEZ MSC.
DOCENTE-MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

**Q.F. GINA JOHNSON HIDALGO. Mg
DOCENTE-MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

**Ab. FRANCISCO PALOMEQUE ROMERO
SECRETARIO GENERAL
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



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



**LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO COMERCIAL DE LA
OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS**

Nosotras, **GENESIS GRACIELA MORALES ANDRADE** con C.I. No. **0953412343** y **EMILY MAGALY PAREDES ARELLANO** con C.I. No. **0952528701**, certificamos que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es **EVALUACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y A-GLUCOSIDASA EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE *Cassia grandis* L.f. (CAÑA FÍSTULA)**”

Son nuestra absoluta propiedad y responsabilidad, en conformidad al Artículo 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN*, autorizo/amo la utilización de una licencia gratuita intransferible, para el uso no comercial de la presente obra a favor de la Universidad de Guayaquil.

GENESIS GRACIELA MORALES ANDRADE
C.I. No. 0953412343

EMILY MAGALY PAREDES ARELLANO
C.I. No. 0952528701

*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, 6 de marzo del 2020

CARTA DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

**“EVALUACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE
Y A-GLUCOSIDASA EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE *Cassia grandis* L.f.
(CAÑA FÍSTULA)”**

Yo, **GENESIS GRACIELA MORALES ANDRADE**, 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 TITULACIÓN, 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 el 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.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "GENESIS MORALES ANDRADE" with a date "12/03/20" below it.

GENESIS GRACIELA MORALES ANDRADE
C.I. No. 0953412343



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



Guayaquil, 6 de marzo del 2020

CARTA DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

**“EVALUACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE
Y A-GLUCOSIDASA EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE *Cassia grandis* L.f.
(CAÑA FÍSTULA)”**

Yo, **EMILY MAGALY PAREDES ARELLANO**, 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 TITULACIÓN, 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 el 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.

Emily Paredes A

EMILY MAGALY PAREDES ARELLANO

C.I. No. 0952528701

DEDICATORIA

DEDICO ESTE TRABAJO DE TESIS A:

Mis amados padres y hermanos por ser mis pilares fundamentales en esta vida y por haberme brindado su apoyo incondicional durante estos años y a mi abuelo que fue parte de mis inicios y siempre confió que llegaría a ser una gran profesional.

EMILY MAGALY PAREDES ARELLANO

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de tesis como principal pilar en todo este proceso a DIOS, por haberme aportado sabiduría y paciencia, A mis amados Padres Jorge Enrique Morales Cevallos y Gloria Celinda Andrade Zambrano por el apoyo incondicional brindado sin ellos no podría haber culminado este proceso para mi formación profesional y a mi familia por sus palabras y motivación.

GENESIS GRACIELA MORALES ANDRADE

AGRADECIMIENTO

Agradezco principalmente a Dios por brindarme sabiduría, fuerza y perseverancia que me llevó a que alcanzara una de mis metas propuestas. A mis padres y hermanos por darme su apoyo, amor y confianza, gracias por sus esfuerzos y sacrificios que hicieron que llegue a cumplir este sueño anhelado, sin duda la mejor herencia.

Mis sinceros agradecimientos a mi tutora, la Dra. Q.F Alexandra Quesada Mg, a mi co- tutora la Dra. Q.F María del Carmen Villacrés por la paciencia, por compartir sus conocimientos y su entrega brindada al momento de realizar esta investigación y al Dr. Oswaldo Pesantes Mg por su tiempo y ayuda brindada estos meses.

Y finalmente quiero agradecer a mis mejores amigas Dannisky Migrik y Amy Carpio por su confianza, y su apoyo constante, espero nuestra amistad perdure y continuemos creciendo profesionalmente.

EMILY MAGALY PAREDES ARELLANO

AGRADECIMIENTO

Agradeciéndole principalmente a DIOS por darme fuerza y paciencia en el transcurso de este proceso, A mis amados Padres por apoyarme en todo momento y darme motivación de seguir adelante.

A la Facultad de Ciencias Químicas y mis docentes, por cada enseñanza dada que me ayudaran en mi vida profesional y por sus consejos.

A mi tutora de tesis Dra. Alexandra QuesadaMg, Co-tutora Dra., María del Carmen Villacrés PhD y docente Dr. Oswaldo Pesantes Mg, por su paciencia y tiempo en este proceso me brindaron conocimientos para la investigación.

A la Dra. Andrea Orellana por habernos facilitado el Laboratorio de Biomedicina de la ESPOL para llevar a cabo la parte experimental de la tesis.

GENESIS GRACIELA MORALES ANDRADE

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN _____	xxi
SUMMARY _____	xxii
INTRODUCCIÓN _____	1
I.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA _____	3
I.1.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA _____	5
I.2. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA _____	5
I.3. HIPÓTESIS _____	7
I.4. OBJETIVOS _____	8
I.4.1. OBJETIVO GENERAL: _____	8
I.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS: _____	8
I.5 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES _____	9
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO _____	10
II.1. ANTECEDENTES _____	10
II.2 POLIFENOLES _____	11
II.2.1. DEFINICIÓN _____	11
II.2.2. ORIGEN, ESTRUCTURA Y DISTRIBUCIÓN _____	12
II.2.3. PROPIEDADES DE LOS POLI FENOLES _____	14
II.2.4. CLASIFICACIÓN _____	15
II.2.5. POR SU GRADO DE SOLUBILIDAD: _____	15
II.2.6. POR SU ESTRUCTURA QUÍMICA: _____	16
II.3. FLAVONOIDES _____	16
II.4. FLAVONOLES _____	17
II.4.1. FLAVONAS _____	18
II.4.2. FLAVANONAS _____	18
II.4.3. ISOFLAVONAS _____	18
II.5. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES _____	19
II.5.1. FOLIN-CIOCALTEU _____	19
II.6. RADICALES LIBRES _____	20
II.6.1. PROPIEDADES DE LOS RADICALES LIBRES _____	20
II.6.2. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE _____	21
II.6.3. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE _____	22

II.7. MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	22
II.7.1. MÉTODO DPPH (DIFENILPICRILHIDRAZILO)	22
II.8. CAÑA FISTULA O CARAO	23
II.8.1. USOS ETNOBOTÁNICOS	24
II.8.2. TAXONOMÍA	25
II.8.3. CARACTERES BOTÁNICOS	25
II.8.4. FLORACIÓN	26
II.8.5. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	27
II.8.6. COMPOSICIÓN QUÍMICA	28
II.9. GENERALIDADES DE LAS GLUCOSIDASAS	29
II.9.1. ENZIMA A-GLUCOSIDASA	30
II.9.2. INHIBIDORES DE A-GLUCOSIDASA	30
II.9.3. DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2)	30
CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS	32
III.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN	32
III.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	32
III.3. RECOLECCIÓN DE MUESTRA	32
III.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	33
III.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	33
III.5.1. HUMEDAD	33
III.5.2. CENIZAS	33
III.5.3. IDENTIFICACIÓN DE POLIFENÓLES TOTALES	35
III.5.3.1 EQUIPOS Y REACTIVOS	35
III.5.3.2 PREPARACIÓN DE REACTIVOS	35
III.5.3.3 PROCEDIMIENTO	35
III.5.4. IDENTIFICACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	35
III.5.4.1 EQUIPOS Y REACTIVOS	35
III.5.4.2 PROCEDIMIENTO	36
III.6. IDENTIFICACIÓN DE A-GLUCOSIDASA	36
III.6.1. ENSAYO DE INHIBICIÓN DE LA ENZIMA A-GLUCOSIDASA	37
III.6.1.2 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS	37
III.6.2 PROCEDIMIENTO PARA LA INHIBICIÓN DE LA ENZIMA A – GLUCOSIDASA	38

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSION	39
IV.1. CERTIFICACIÓN DE LA PLANTA	39
IV.2. PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS	40
IV.2.1 HUMEDAD	40
IV.2.2 CENIZAS TOTALES	40
IV.3. DETERMINACIÓN DE POLIFENÓLES TOTALES DE <i>Cassia Grandis L.F</i>	43
IV.4. DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE <i>Cassia Grandis L.F</i>	45
IV.5. ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LOS EXTRACTOS ACUOSO Y ETANÓLICO DE LA CORTEZA DE <i>Cassia Grandis L.F</i> . SOBRE LA ENZIMA A-GLUCOSIDASA	45
CONCLUSIONES	49
RECOMENDACIONES	50
GLOSARIO	51
ANEXOS	54
BIBLIOGRAFÍA	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla i Operacionalización de las variables _____	9
Tabla ii Estructura de poli fenoles más comunes _____	16
Tabla iii Taxonomía de <i>Cassia grandis</i> L.f _____	25
Tabla iv Descripción Botánica _____	26
Tabla v Certificación de la planta _____	39
Tabla vi Resultados de Análisis de Humedad _____	40
Tabla vii Resultados del Análisis de Cenizas Totales _____	40
Tabla viii Resultados de la determinación de sólidos totales (extracto acuoso) _	40
Tabla ix Resultados de la determinación de sólidos totales (extracto etanólico) _	41
Tabla x Concentraciones de sólidos totales de extractos _____	42
Tabla xi Resultados de sólidos totales en extracto acuoso y etanólico _____	43
Tabla xii Extracto Etanólico Folin-Ciocalteu _____	43
Tabla xiii Extracto Acuoso Folin-Ciocalteu _____	43
Tabla xiv Extracto Etanólico DPPH _____	45
Tabla xv Extracto Acuoso DPPH _____	45
Tabla xvi Actividad inhibitoria de la enzima α - glucosidasa _____	46
Tabla xvii Valores de sólidos totales utilizados en el ensayo enzimático. _____	47

ÍNDICE DE ILUSTRACIÓN

ILUSTRACIÓN i. PRINCIPALES ESTRUCTURAS QUÍMICAS DE LOSPOLIFENOLES. _____	11
ILUSTRACIÓN ii. RUTA DE BIOSÍNTESIS DE LOS POLI FENOLES. _____	14
ILUSTRACIÓN iii. UBICACIÓN GEOGRÁFICA _____	27
ILUSTRACIÓN iv. CASSIA GRANDIS L.F _____	32

“EVALUACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y α -GLUCOSIDASA EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE *Cassia grandis* L.f. (CAÑA FÍSTULA)”.

Autores: Génesis Graciela Morales Andrade, Emily Magaly Paredes Arellano.

Tutor: Dra. Q.F Alexandra Quesada Mg.

RESUMEN

La *Cassia grandis* L.f conocida como caña fistula en Ecuador perteneciente a la familia Fabaceae es una planta que ha sido usada y aprovechada tradicionalmente para tratar enfermedades respiratorias, hepáticas, anémicas, entre otras. Actualmente existe una tendencia sobre el consumo de productos de origen vegetal como ayuda para el control de la diabetes tipo 2. Se recolectaron en el cantón Milagro provincia del Guayas 2 kilogramos de cortezas de la especie *Cassia grandis* L.f. durante los meses de octubre a noviembre del 2019. El análisis de sólidos totales indicó 2.63 % en el extracto etanólico y 2.50% en el extracto acuoso. Se trabajó con el extracto acuoso y etanólico de la corteza de esta planta, los cuales se sometieron a pruebas de Folin-Ciocalteu y se obtuvo como resultado para Polifenoles Totales con mayor porcentaje en extracto acuoso 83.96% y extracto etanólico 74.10%. La Actividad Antioxidante se determinó por 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y dio como resultado en extracto etanólico Ácido Gálico 0.11 mg/ml, Ácido Ascórbico 0.39 mg/ml y en extracto acuoso Ácido Gálico 0.12mg/ml, y Ácido Ascórbico 0.45 mg/ml. Además, se evaluó in vitro la actividad inhibitoria de la enzima α - glucosidasa presentando para el extracto etanólico 47.91% y el extracto acuoso 50.03%. Estos hallazgos darían lugar a nuevas investigaciones para elaboración de productos farmacéuticos con el objetivo de ayudar en el tratamiento de la diabetes.

Palabras clave: *Cassia grandis* L.f, Polifenoles Totales, Actividad Antioxidante, α -glucosidasa.



“EVALUACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y α -GLUCOSIDASA EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE *Cassia grandis* L.f. (CAÑA FÍSTULA)”

Autores: Génesis Graciela Morales Andrade, Emily Magaly Paredes Arellano.

Tutor: Dra. Alexandra Quesada Mg.

SUMMARY

Cassia grandis L.f known as cane fistula in Ecuador belonging to the Fabaceace family is a plant that has been traditionally used and used to treat respiratory, liver, anemic diseases, among others. There is currently a trend on the consumption of products of plant origin as an aid for the control of type 2 diabetes. 2 kilograms of bark of the *Cassia grandis* L.f. during the months of October to November 2019. The analysis of specific total solids 2.63% in the ethanolic extract and 2.50% in the aqueous extract. According to the aqueous and ethanolic extract of the bark of this plant, any of them performed some Folin-Ciocalteu tests and obtained as a result for Total Polyphenols with a higher percentage in 83.96% aqueous extract and 74.10% ethanolic extract. The Antioxidant Activity was determined by two, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and resulted in ethanolic extract Gallic Acid 0.11 mg / ml, Ascorbic Acid 0.39 mg / ml and in aqueous extract Gallic Acid 0, 12 mg / ml, and Ascorbic Acid 0.45 mg / ml. In addition, the inhibitory activity of the enzyme α -glucosidase was evaluated in vitro, presenting for the ethanol extract 47.91% and the aqueous extract 50.03%. These findings will lead to further research for the development of pharmaceutical products with the aim of helping in the treatment of diabetes.

Keywords: *Cassia grandis* L.f, Total Polyphenols, Antioxidant Activity, α -glucosidase

INTRODUCCIÓN

La hiperglicemia o diabetes es un rápido incremento de los niveles de glucosa en la sangre a causa de la hidrólisis del almidón, actuando por medio de la liberación de la glucosa en el intestino delgado por la enzima α -glucosidasa. La inhibición de esta enzima puede significar el decremento de hiperglicemia y podría ser una estrategia clave para el control de la diabetes mellitus (Van de Laar, F., Lucassen, P., Akkermans, R., Van de Lisdonk, E., Rutten, G & Van Weel, C. , 2005). Se conoce que esta es una enfermedad con alto índice de morbilidad convirtiéndose en uno de los problemas de mayor salud a nivel mundial. En Ecuador y en numerosos países la población recurre a la medicina ancestral para ayudarse con el control de esta dolencia. *Cassia grandis L.f.* es una de las especies mayormente aprovechadas por sus diferentes usos etnobotánicos que representa cada parte del árbol.

En el litoral ecuatoriano la población utiliza el fruto como alimento por su sabor dulce, infusión de las hojas para resfriados, flores trituradas para curar heridas y la corteza un posible control contra la diabetes, estos son los motivos por lo que se debe estudiar esta especie vegetal que pertenece a la familia de las Fabaceae, ampliamente distribuidas por Latinoamérica y ciertas partes de Europa y Asia, muchos de sus géneros son estudiados por su actividad biológica, empezando con Polifenoles totales seguido de la actividad antioxidante.

Este estudio está basado en la evaluación de los Polifenoles totales, actividad antioxidante expresada en Acido Gálico y Ácido Ascórbico y la capacidad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa en extractos acuoso y etanólico de cortezas de *Cassia grandis L.f.*

Se recolectaron en el cantón Milagro provincia del Guayas 2 kilogramos de cortezas de la especie *Cassia grandis L.f.* durante los meses de octubre a noviembre del 2019. La certificación de la planta se ejecutó en el Herbario Guay de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil. Además, se realizaron análisis de humedad, cenizas y sólidos totales con extractos acuoso y etanólico.

El análisis de sólidos totales indicó 2.63 % en el extracto etanólico y 2.50% en el extracto acuoso. Se trabajó con el extracto acuoso y etanólico de la corteza de esta planta, los cuales se sometieron a pruebas de Folin-Ciocalteu y se obtuvo como resultado para Polifenoles Totales con mayor porcentaje en extracto acuoso 83.96% y extracto etanólico 74.10%. La Actividad Antioxidante se determinó por 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y dio como resultado en extracto etanólico Ácido Gálico 0.11 mg/ml, Ácido Ascórbico 0.39 mg/ml y en extracto acuoso Ácido Gálico 0.12mg/ml, y Ácido Ascórbico 0.45 mg/ml. Además, en el Laboratorio de Biomedicina de la Facultad de Ingeniería Marítima, Ciencias Biológicas, Oceánicas y Recursos Naturales, Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), mediante un espectrofotómetro marca SYNERGY/ HTX Lector de Elisa, a una longitud de onda de 405 nm, en micro placas de 96 pocillos, se evaluó in vitro la actividad inhibitoria de la enzima α - glucosidasa presentando el extracto etanólico 47.91% y el extracto acuoso 50.03%. Estos hallazgos darían lugar a nuevas investigaciones para elaboración de productos farmacéuticos con el objetivo de ayudar en el tratamiento de la diabetes.

I.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Cassia grandis L.f conocida como caña fistula en Ecuador perteneciente a la familia Fabaceae es una planta que ha sido usada tradicionalmente para tratar enfermedades respiratorias, hepáticas, anémicas, endocrinas, entre otras. Además, posee actividad antioxidante que permite evaluar la eliminación de los radicales libres como DPPH (Difenil Picril Hidrazilo). Los estudios de caracterización química demuestran la presencia de esteroides, terpenos, aceites esenciales, azúcares reductores, aminoácidos, aminos, saponinas, glicósidos y polisacáridos (J. Cambar Pablo, 2014).

Es habitual observar en la población en general un escaso consumo de frutas, hortalizas, entre otros alimentos fuente de antioxidantes naturales. Estudios epidemiológicos demuestran que el consumo regular de frutas y verduras está asociado con la disminución del riesgo de padecer enfermedades crónicas como cáncer, diabetes mellitus y problemas cardiovasculares, Alzheimer, derrames cerebrales, cataratas o el deterioro funcional asociado a la edad, por lo tanto, un aumento en la ingesta de estos antioxidantes dietarios podría proteger de estas enfermedades crónicas (Jorge & Troncoso, 2016).

Según la (Organización Mundial de la Salud (OMS), 2015), calcula que la ingesta insuficiente de frutas y verduras causa en todo el mundo aproximadamente un 19% de los cánceres gastrointestinales, un 31% de las cardiopatías isquémicas y un 11% de los accidentes vasculares cerebrales. Aproximadamente un 85% de la carga mundial de morbilidad atribuible al escaso consumo de frutas y verduras se debió a las enfermedades cardiovasculares. Cada año podrían salvarse hasta 1,7 millones de vidas si hubiera un consumo mundial suficiente.

En la actualidad la diabetes es uno de los problemas de salud más desafiantes a nivel mundial cuyas complicaciones conlleva a la muerte. Entre otros usos etnobotánicos representativos de esta planta tenemos la raíz como antiséptico para curar heridas, la decocción de las hojas ha sido utilizada en el tratamiento ancestral de diabetes mellitus, la fruta y la corteza por vía oral para tratar anemias, hemorragias, enfermedades hepáticas, resfriados y tos (J. Cambar Pablo, 2014).

A causa de la hidrólisis del almidón se da un incremento de los niveles de glucosa provocando hiperglicemia la cual actúa sobre las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa. La inhibición de estas enzimas puede contribuir a controlar la hiperglicemia postprandial, se presume que sería una estrategia para el control de la diabetes. La desventaja de los inhibidores terapéuticos: acarbosa, miglitol y voglibosa sobre α -glucosidasa tienen la propiedad de inhibir en altos porcentajes de α -amilasa lo que ocasiona desórdenes en el tracto digestivo como diarrea, distensión y flatulencias abdominales. Los inhibidores de origen natural se presumen que tienen baja actividad de inhibición de α -amilasa y probablemente una fuerte inhibición sobre α -glucosidasa, con la ventaja de mostrar efectos secundarios menores en pacientes que requieran terapia efectiva para la hiperglicemia.

Lastimosamente los habitantes pasan por desapercibido las bondades que ofrece esta planta. A pesar de que se transmite de generación en generación la información de las propiedades de *Cassia grandis* L.f. se torna necesario complementar la evaluación de su contenido de polifenoles totales, su actividad antioxidante y capacidad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa (Autores, 2019).

I.1.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿De qué manera incide el contenido de polifenoles totales presentes en extractos etanólico y acuoso de corteza de *Cassia grandis* L.f. en la actividad antioxidante y la capacidad inhibitoria de alfa-glucosidasa?

I.2. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

La especie *Cassia grandis* L.f. (Caña fístula) ha sido usada como tratamiento para enfermedades antianémicas, hepáticas, resfriado y tos. Es indispensable evaluar la presencia y concentración de polifenoles totales, actividad antioxidante y capacidad inhibitoria de α -glucosidasa y así darle una utilidad futura como lo detalla el ODS (Objetivo de Desarrollo Sostenible) que trata acerca del Bienestar y Salud con el fin de disminuir la mortalidad y las enfermedades en niños, adultos y mujeres embarazadas (ONU, 2013).

A pesar del olor picante y un sabor particularmente fuerte de la pulpa de caña fístula, se consume habitualmente como una bebida fresca para reducir el nivel de glucosa en sangre, sin embargo, no hay informes sobre el efecto antidiabético in vivo o in vitro de la fruta ni de sus extractos (Lafourcade, 2018).

El uso de plantas medicinales para personas diabéticas ha aumentado, debido a la necesidad de controlar los niveles de glucosa en sangre. Las poblaciones del Caribe, y América Central informan sobre el uso caña fístula en la diabetes (Ezuruike y Prieto, 2014).

En la actualidad en el Ecuador, se consume gran variedad de productos naturales que provienen de plantas medicinales de uso ancestral, sin embargo, esta planta es rechazada por la población debido a su olor desagradable, a pesar de los beneficios que se atribuyen. Por lo tanto, es importante valorar, las propiedades, composición que posee cada parte de este árbol, en especial la corteza y las aplicaciones más importantes como: laxante, hipoglicémica y nutritiva (Coronado, 2015).

El estudio sobre la capacidad antioxidante de especies vegetales es una alternativa en la búsqueda de nuevas fuentes de tratamiento de costo reducido y al alcance de la población, para disminuir el riesgo de ciertas enfermedades ya que un número significativo de productos obtenidos como los polifenoles totales poseen efectos antioxidantes y pueden inhibir o retardar la oxidación de otras moléculas y propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres. En las últimas décadas puede observarse como tendencia mundial, un aumento del consumo de plantas medicinales para tratamiento de ciertas enfermedades (Moreno, 2014).

Los antioxidantes pueden neutralizar el exceso de radicales libres durante la actividad oxidativa, propia del organismo. La producción de radicales libres, un evento natural, es regulado por diferentes rutas metabólicas, porque representan la primera línea de defensa de los seres vivos. Un radical libre es aquella figura química que tiene en su estructura uno o más electrones no apareados, los alimentos vegetales aportan diferentes elementos antioxidantes que junto a otros fotoquímicos han demostrado reducir el desarrollo de determinadas enfermedades degenerativas (Moreno, 2014).

“Uno de los metabolitos presentes en todas las especies vegetales, son los polifenoles que consisten en metabolitos secundarios que tienen acciones farmacológicas, como ser la de tener propiedades antioxidantes”(Coronado, 2015).

Las α -glucosidasas son enzimas que tienen como función degradar los carbohidratos en las microvellosidades del epitelio del intestino delgado, tomando como principal objetivo facilitar su absorción. Los polisacáridos, oligosacáridos y disacáridos son hidrolizados y a la vez transformados en monosacáridos; el hidrolisis es producida por las α -glucosidasas como son: maltasa, glucoamilasa, dextrinasa y sacarasa. Los responsables conocidos de la inhibición de las α -glucosidasas, son los flavonoides (isoflavonas, flavonoles, antocianidinas)(Aguilera, M., Reza, M., Chew, R., & Meza, V. , 2011).

El medicamento de referencia para evaluar la inhibición de α -glucosidasa es la Acarbosa y Miglitol, ambas sustancias reducen la formación de monosacáridos y disponibilidad de glucosa y hexosas que consecuentemente son absorbidas en el intestino y así producen la disminución de los niveles postprandiales de glucosa en la sangre e insulina. El uso clínico de la Acarbosa es limitado, ya que posee múltiples efectos adversos después de su administración como son: provocar trastornos gastrointestinales, además de costo elevado y la falta de evidencia en cuanto a la prevención de la diabetes. Por esta razón se considera prudente no recomendar la Acarbosa o el Miglitol para personas con prediabetes (Van de Laar, F., Lucassen, P., Akkermans, R., Van de Lisdonk, E., Rutten, G & Van Weel, C. , 2005).

Por lo anterior antes expuesto, el presente trabajo de investigación busca evaluar la concentración de polifenoles totales, actividad antioxidante y la capacidad inhibitoria de alfa-glucosidasa en extracto etanólico de corteza de *Cassia grandis* L.f

I.3. HIPÓTESIS

El contenido de polifenoles totales obtenido mediante el método Folin – Ciocalteu en extractos etanólico y acuoso de la corteza de *Cassia grandis* L.f. que crece en zonas litorales de Ecuador está relacionada con su actividad antioxidante y la actividad inhibitoria de α -glucosidasa.

I.4. OBJETIVOS

I.4.1. OBJETIVO GENERAL:

- Evaluar polifenoles totales, actividad antioxidante y α -glucosidasa en la corteza de *Cassia grandis* L.f.

I.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Determinar el contenido de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu.
2. Determinar la actividad antioxidante por el método DPPH (Espectrofotometría).
3. Evaluar el porcentaje de inhibición de la enzima α -glucosidasa.

1.5 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Tabla i. Operacionalización de las variables

Tipo	Variable	Conceptualización	Instrumento	Unidad de medida
Independiente	Polifenoles Totales	Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas, con diversas funciones fisiológicas. Variadas estructuras químicas caracterizan a este grupo de moléculas (Valencia, 2016).	Folin-Ciocalteu	Porcentaje
	Actividad antioxidante	Molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas (Coronado, 2015)	Difenil Picril Hidrazilo	Concentración
Dependiente	Alfa-glucosidasa	Son enzimas disacáridos intestinales cuya función es dividir los hidratos de carbono del tipo alfa disacáridos (sacarosa) para permitir la absorción de monosacáridos, como la glucosa. (Valverde, 2015)	Espectrofotométrico	Porcentaje de inhibición

Elaborado por: Autoras (2019)

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

II.1. ANTECEDENTES

Las Fabaceae incluyendo Caesalpiniaceae y Mimosaceae son la cuarta familia más diversa en la flora ecuatoriana con 541 especies nativas de las cuales 56 son endémicas. El nivel de endemismo 10%, es relativamente bajo en comparación con otras familias grandes como Rubiaceae y Melastomatáceo. El grupo fue tratado como tres familias diferentes: Fabaceae sensu stricto con 266 especies de las cuales 32 son endémicas; Mimosaceae con 178 especies, 14 son endémicas; y Caesalpiniaceae con 97 especies, 10 son endémicas (Cáceres A., 1996).

Entre las especies endémicas de Fabaceae existen diferentes patrones de distribución y abundancia. En algunos casos particularmente de árboles de los bosques húmedos de la Amazonía y de la Costa, las especies endémicas son relativamente abundantes con numerosas poblaciones(Aguilera, M., Reza, M., Chew, R., & Meza, V. , 2011).

Actualmente existen estudios que validan el potencial medicinal de esta especie, debido a su composición fitoquímica, su capacidad antioxidante y su alta biodisponibilidad(Romero, 2018)

Afirman que la semilla de la fruta se puede utilizar como un potencial antidiabético debido a su efecto inhibitorio de la Tripsina. La pulpa de la fruta in vivo mostró una reducción en los niveles de glucosa en sangre y su potencial anti-anémico por su alto contenido de Hierro (Lafourcade, 2018).

II.2 POLIFENOLES

II.2.1. Definición

Los polifenoles son antioxidantes activos y abundantes, principalmente en tejidos vegetales. Estos antioxidantes corresponden a un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas (Rodríguez J, 2017).

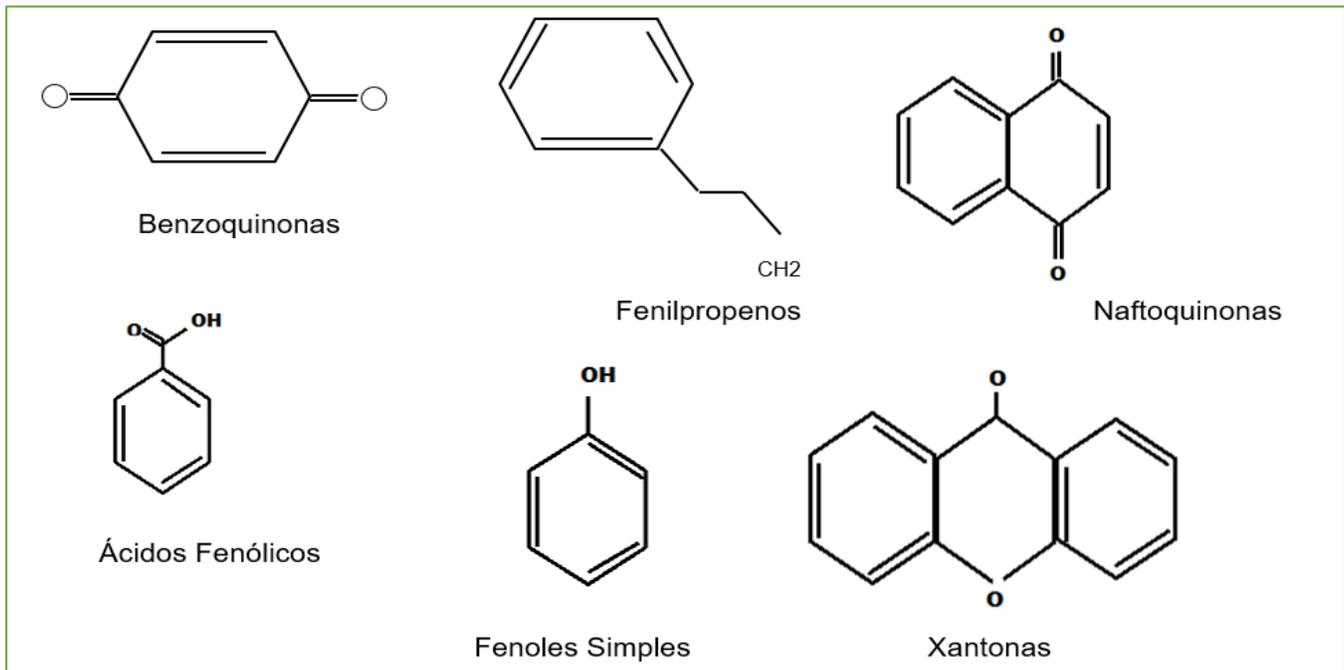


Ilustración i. Principales estructuras químicas de los polifenoles.

Fuente:(Lizárraga, Hernández, González, & Heredia, 2012)

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas, cada uno con diversas funciones fisiológicas variadas diferentes estructuras químicas propias que caracterizan a este grupo de moléculas y a su amplia distribución, así como su capacidad de captar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno que son asociadas con el padecimiento de enfermedades que perfila a los extractos naturales ricos en

compuestos fenólicos como ingredientes para diferentes afectaciones, también, por sus beneficios contra la oxidación celular que han sido utilizados para el desarrollo de nuevos productos en la industria farmacéutica de alimentos y cosméticos (Valencia, E., Ignacio, I., Sosa, E., Bartolomé, M., Martínez, H., & García, M, 2016).

Los polifenoles son compuestos bio-sintetizados por las plantas (sus hojas, flores, tallos, raíces, semillas y otras partes). Todos los polifenoles exhiben propiedades antioxidantes, la mayor parte de la actividad antioxidante que exhiben las frutas, las verduras y ciertas infusiones y bebidas naturales habitualmente consumidas por la población (Moreno, 2014).

En la naturaleza existe una gran cantidad de compuestos que presentan uno o varios anillos en sus estructuras que son característicos de cada especie, es decir que son sintetizadas producto de su metabolismo secundario con la función de participar en diferentes funciones fisiológicas vegetales como estrés oxidativo, funciones de defensa y otros estímulos(Moreno, 2014)

II.2.2. Origen, estructura y distribución

En la naturaleza existe una amplia variedad de compuestos que presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos. Estos compuestos podemos denominarlos polifenoles, se originan principalmente en las plantas que los sintetizan en gran cantidad como producto de su metabolismo secundario, algunos son indispensables para las funciones fisiológicas vegetales, otros participan en funciones de defensa ante situaciones de estrés y diversos estímulos. Existen varias clases y subclases de polifenoles que se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos (Grandos,A, 2010).

Los principales grupos de polifenoles son: ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico, estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides). La biosíntesis de los polifenoles como producto del metabolismo secundario de las plantas tiene lugar a través de dos importantes rutas primarias: la del ácido siquímico y la de los poliacetatos. La del ácido siquímico proporciona la síntesis de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina o tirosina), y la

síntesis de los ácidos cinámicos y sus derivados (fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos y derivados del fenilpropano). La de los poliacetatos proporciona las quinonas y las xantonas(Grandos,A, 2010).

Se inicia en los plastos por condensación de dos productos típicamente fotosintéticos, la eritrosa-4-fostato procedente de la vía de las pentosas fosfato y el fosfoenolpiruvato originario de la glucólisis. Tras diversas modificaciones se obtiene el ácido siquímico, del que derivan directamente algunos fenoles. La vía del ácido siquímico puede continuar con la adhesión de una segunda molécula de fosfoenolpiruvato, dando lugar a la fenilalanina un aminoácido esencial propio del metabolismo primario de las plantas. La fenilalanina entra a formar parte del metabolismo secundario por acción de la enzima fenilalanina amonioliasa, que cataliza la eliminación de un grupo amonio transformándola fenilalanina en el ácido trans-cinámico. Posteriormente, el ácido trans-cinámico se transforma en ácido *p*-cumárico por incorporación de un grupo hidroxilo a nivel del anillo aromático. La acción de una Coenzima A (CoA), la CoA-ligasa, transforma el ácido *p*-cumárico en *p*-cumaroilCoA, que es el precursor activo de la mayoría de los fenoles de origen vegetal. La ruta de los poliacetatos comienza a partir de una molécula inicial de acetilCoAy a través de una serie de condensaciones se originan los poliacetatos. Por reducción de los poliacetatos se forman los ácidos grasos, y por ciclación posterior se forman una gran variedad de compuestos aromáticos, como las quinonas y otros metabolitos que se generan a través de rutas mixtas, estas rutas combinan precursores tanto de la vía del ácido siquímico como de la de los poliacetatos. Este es el caso de un importante grupo de moléculas biológicamente activas, denominadas genéricamente flavonoides. En la *ilustración 2* se resume la ruta de biosíntesis de los polifenoles (Grandos,A, 2010).

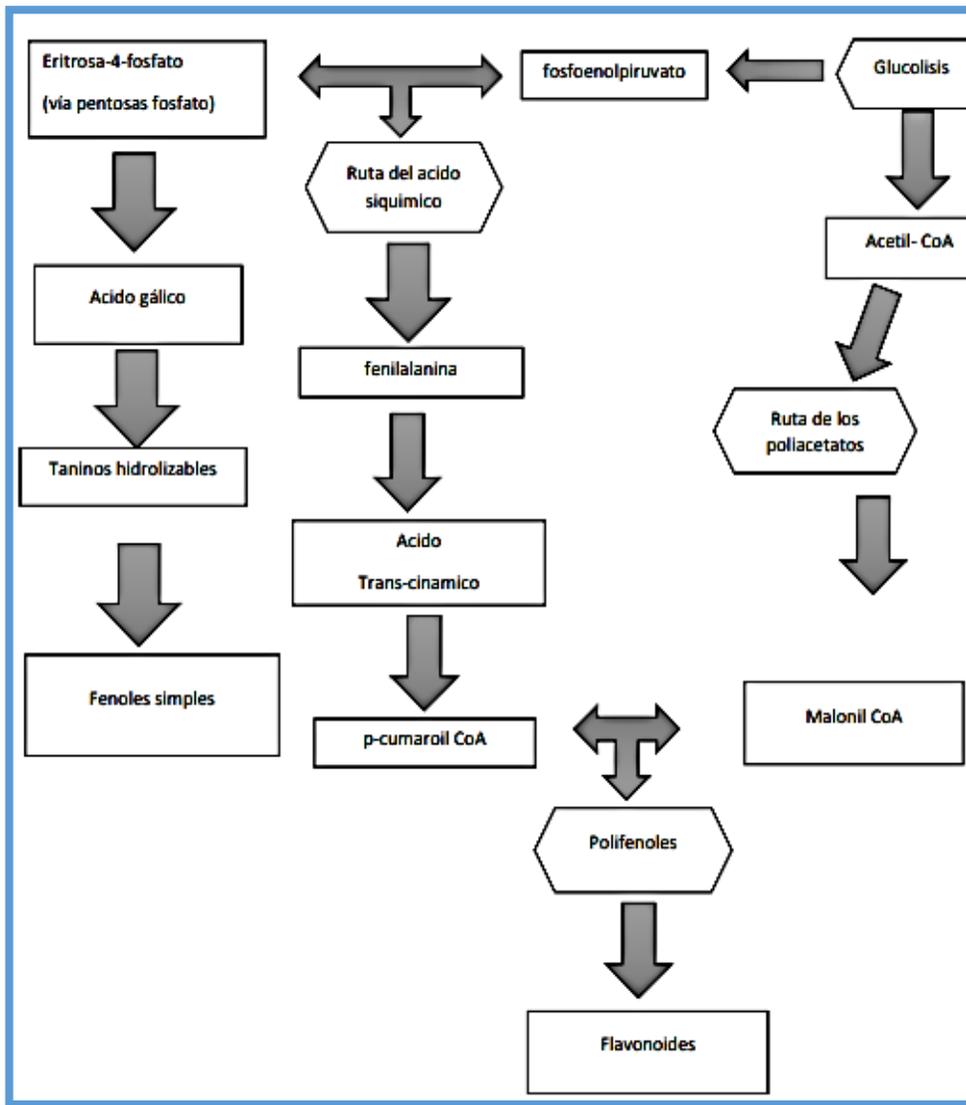


Ilustración ii. Ruta de biosíntesis de los polifenoles.

Fuente:(Grandos,A, 2010).

II.2.3. PROPIEDADES DE LOS POLI FENOLES

Los polifenoles protegen a las células ante el daño oxidativo tratando de disminuir los riesgos que están asociados al estrés oxidativo como las enfermedades degenerativas que son causadas por el oxígeno en su forma radical, una clase de estos metabolitos son los flavonoides los cuales son importantes compuestos fenólicos que se sintetizan en cantidades esenciales por las plantas a los cuales se

le atribuyen varias actividades biológicas beneficiosas para el interés humano (Grandos,A, 2010).

II.2.4. CLASIFICACIÓN

Los compuestos fenólicos también llamados polifenoles comprenden una amplia variedad de moléculas desde compuestos altamente polimerizados hasta moléculas simples con un solo anillo fenólico en su estructura, tenemos como ejemplo los alcoholes y ácidos fenólicos. Se han descrito más de 8000 polifenoles distintos que pueden clasificarse en diferentes grupos según el número de anillos fenólicos que contienen y el tipo de sustituyente unido a estos anillos. Las principales clases de polifenoles por ser los más ampliamente distribuidos en los alimentos son: flavonoides, ácidos y alcoholes fenólicos, estilbenos y lignanos(Grandos,A, 2010).

Los polifenoles se clasifican según los siguientes criterios: solubilidad y estructura química, siendo las más comunes para dividir los grupos de los compuestos fenólicos.

II.2.5. Por su grado de solubilidad:

Como forma general los Compuestos Fenólicos se los dividieron en dos grandes grupos: Flavonoides (F) y no Flavonoides. En el grupo de los F, se encuentran los Flavonoles (FN), flavonas (FAS), Flavanol, Isoflavonas (IF), Flavanonas (FNA), Dihidroflavonoles (DHF), Antocianinas y Chalconas, mientras que en el grupo de no Flavonoides están los Ácidos Hidroxibenzoicos, Ácidos Hidroxicinámicos, polifenoles volátiles, Estilbenos y compuestos diversos (lignanos y cumarinas) los compuestos solubles en agua son los Ácidos Fenólicos, Fenilpropanoides, Flavonoides y Quinonas. Por otro lado, se encuentran los compuestos insolubles en agua, tales como los Taninos condensados, Ligninas y Ácidos Hidroxicinámicos, los cuales están unidos a la pared celular de las células vegetales(Valencia, E., Ignacio, I., Sosa, E., Bartolomé, M., Martínez, H., & García, M, 2016).

II.2.6. Por su estructura química:

Los polifenoles también se clasifican acorde al número de anillos fenólicos y los elementos estructurales unidos a las unidades básicas, siendo los principales grupos de compuestos Fenólicos, los Flavonoides, Ácidos Fenólicos, Taninos hidrolizables, Taninos condensados, Estilbenos y Lignanos, es decir que constituyen uno de los grupos de metabolitos secundarios más abundantes de las especies vegetales (Valencia, E., Ignacio, I., Sosa, E., Bartolomé, M., Martínez, H., & García, M, 2016).

Tabla ii. Estructura de polifenoles más comunes

ESTRUCTURA	CLASE FENÓLICA
C 6	Fenólicos simples
C 6 -C 1	Ácidos fenólicos y compuestos relacionados.
C 6 -C 2	Acetofenonas y Ácidos Fenilacéticos.
C 6 -C 3	Ácidos cinámicos, aldehídos / alcoholes cinamilos
C 6 -C 3	Cumarinas, Isocumarinas, Cromonas.
C 6 -C 1 -C6	Benzofenonas, xantonas
C 6 -C 2 -C 6	Estilbenos
C 6 -C 3 -C 6	Chalcones, Aurones, Dihidrochalcones
C 6 -C 3 -C 6	Flavones
C 6 -C 3 -C 6	Flavonoles
C 6 -C 3 -C 6	Isoflavonoides
C 6 -C 3 -C 6	Antocianinas
C 6 -C 3 -C 6	Biflavonoides
(C 6 -C 3 -C 6) 2	Benzoquinonas, Naftaquinonas y Antraquinonas
C 18	Betacianinas
Lignanos, neolignanos	Dímeros u oligómeros
Lignina	Polímeros

Fuente: (Zhang, B., Cai, J., Chang-Qing, D., Reeves, M. j., & He, F, 2015)

II.3. FLAVONOIDES

Los Flavonoides, cuya estructura (Difenilpropano, C6-C3-C6), comprende dos anillos aromáticos que se encuentran unidos entre sí por un heterociclo formado por tres átomos de carbono y uno de oxígeno para los cuales se han descrito más de cinco mil compuestos en el reino vegetal. Los Flavonoides se subdividen en los

siguientes seis grupos de compuestos: Antocianinas, Flavonoles, Flavanonas, Flavonas e Isoflavonas (Duarte, J., & Vizcaíno, F, 2015).

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común Difenilpirano (C6 -C3 -C6), compuesto por dos anillos fenilo ligados a través de un anillo de pirano heterocíclico. Los átomos de carbono individuales de los anillos se numeran mediante un sistema que utiliza números ordinarios y números primos para el anillo (Duarte, J., & Vizcaíno, F, 2015).

De los tres anillos, uno se biosintetiza a través de la ruta de los poliacetatos, y el anillo siguiente procedente de la ruta del ácido siquímico. Todos los Flavonoides son estructuras hidroxiladas en sus anillos aromáticos y son por lo tanto estructuras polifenólicas. Los Flavonoides se encuentran mayoritariamente como glucósidos, pero también pueden aparecer en forma libre llamados Agliconas. Flavonoides se pueden presentar como sulfatos, dímeros o polímeros. Los glucósidos se pueden encontrar de dos formas: como O-glucósidos con los carbohidratos ligados a través de átomos de oxígeno (enlace hemiacetal), o como C-glucósidos con los carbohidratos ligados a través de enlaces carbono-carbono (Duarte, J., & Vizcaíno, F, 2015).

Los flavonoides están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, estos metabolitos muestran una amplia gama de actividades biológicas cardiovasculares, por lo tanto, los efectos beneficiosos de las dietas ricas en frutas y verduras en la salud cardiovascular han sido a menudo atribuidos a los Flavonoides en general y más específicamente a los Flavonoles (Duarte, J., & Vizcaíno, F, 2015).

II.4. FLAVONOLES

Se caracterizan por poseer un grupo cetona en el carbono C4 y una insaturación entre los carbonos C2 y C3, poseen además un grupo hidroxilo adicional en el carbono C3, representan el grupo más ubicuo de polifenoles presente en los alimentos. La Quercetina es el compuesto más representativo. Las principales fuentes de flavonoles son las verduras y las frutas, el té y el vino son también alimentos ricos en flavonoles. La biosíntesis de flavonoles es un proceso fotosintético, por ello estos compuestos se localizan principalmente en el tejido

externo y aéreo de la planta. La distribución y la concentración de los flavonoles puede ser distinta incluso en frutas procedentes de la misma planta; esto se debe a que la localización de los frutos condiciona la exposición al sol (Duarte, J., & Vizcaíno, F, 2015).

II.4.1. FLAVONAS

Poseen un grupo cetona en el carbono C4 y una insaturación entre los carbonos C2 y C3. Son los flavonoides menos abundantes en los alimentos: perejil y apio representan la única fuente comestible de flavonas. La piel de las frutas también posee grandes cantidades de Flavonas Polimetoxiladas (Duarte, J., & Vizcaíno, F, 2015).

II.4.2. FLAVANONAS

Son análogos de las flavonas con el anillo C saturado, se glucosilan principalmente por la unión de un disacárido en el carbono C7, constituyen un grupo minoritario en los alimentos. Las Flavanonas aparecen a altas concentraciones en cítricos y en tomates y también se encuentran en ciertas plantas aromáticas como la menta, se localizan mayoritariamente en las partes sólidas de la fruta, en particular en el albedo (membranas que separan los segmentos de las frutas) (Duarte, J., & Vizcaíno, F, 2015).

II.4.3. ISOFLAVONAS

Poseen un anillo bencénico lateral en posición C3, su estructura recuerda a la de los estrógenos. Las isoflavonas poseen grupos hidroxilos en los carbonos C7 y C4, al igual que sucede en la estructura molecular de la hormona estriol (uno de los tres estrógenos mayoritarios junto al estradiol y la estrona). En realidad, las Isoflavonas se pueden unir a receptores de estrógenos y por ello se clasifican como Fitoestrógenos. Se pueden presentar como Agliconas, o a menudo conjugadas con glucosa, pero son termo sensible y pueden hidrolizarse durante su procesamiento industrial y durante su conservación. Se presentan casi exclusivamente en plantas leguminosas, siendo la soja y sus derivados la principal fuente de isoflavonas.

II.5. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES

El ensayo Folin-Ciocalteu ha sido utilizado durante muchos años como una medida del contenido de compuestos fenólicos totales en productos naturales. El mecanismo básico del método es una reacción redox por lo que puede considerarse como otro método de medida de la actividad antioxidante total. El método que se utiliza actualmente es una modificación efectuada por Singleton y Rossi de uno empleado para la determinación de tirosina, el cual se basaba en la oxidación de los fenoles por un reactivo de Molibdeno y Wolframio (Tungsteno). La mejora introducida por Singleton y Rossi fue el uso de un Heteropolianión fosfórico de Molibdeno y Wolframio que oxida los fenoles con mayor especificidad. Aparición de una coloración azul que presenta un máximo de absorción a 765 nm y que se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico. Se trata de un método simple, preciso y sensible pero que sin embargo sufre numerosas variaciones cuando es aplicado por diferentes grupos de investigación, fundamentalmente relacionado a los volúmenes empleados de muestra, concentraciones de reactivos, tiempos y temperaturas de incubación (Rodríguez J, 2017).

II.5.1. Folin-Ciocalteu

Los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de Wolframato sódico y Molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido Fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que se mide para evaluar el contenido en polifenoles (García, E., Fernández, I., & Fuentes, A, 2015).

También se pueden producir variaciones en el modo de expresar los resultados, sin embargo, el patrón recomendado es el ácido gálico, este ensayo de análisis de los polifenoles totales se utiliza con frecuencia en el estudio de las propiedades

antioxidantes de alimentos vegetales como zumos de frutas, al tratarse de un parámetro que generalmente muestra una estrecha correlación con los diferentes métodos de medición de la actividad antioxidante(García, E., Fernández, I., & Fuentes, A, 2015).

II.6. RADICALES LIBRES

Son moléculas o fragmentos de moléculas caracterizadas por tener uno o más electrones desapareados en su orbital externo, condición que los torna altamente reactivos. En el ser humano se generan radicales libres en la cadena respiratoria mitocondrial cuando reacciona el peróxido de hidrógeno con el ion ferroso, por acción catalítica de la ciclooxygenasa, la reacción de vitamina C con el ión ferroso, por acción de la Nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato (NADPH) reductasa(Guija, E., Inocente, M., Ponce, J., & Zarzosa, E, 2015).

En la naturaleza los radicales libres son compuestos generalmente oxigenados y se denominan especies reactivas de oxígeno (ERO), estas son abundantes en los sistemas vivos, una explicación razonable sobre la presencia de esta clase de reacciones químicas surge de los estudios sobre el origen y evolución de la vida. debido a que los organismos se desarrollan en presencia de oxígeno, están expuestos a la generación de ERO, éstos son responsables del daño oxidativo de macromoléculas biológicas como el ADN lípidos, carbohidratos y proteínas participando en mecanismos fisiopatológicos de muchas enfermedades, como algunos tipos de cáncer, diabetes, patologías cardiovasculares, procesos reumáticos, patologías gastrointestinales o procesos neurodegenerativos, también están implicados en procesos fisiológicos como el envejecimiento, el daño causado por el ejercicio físico agotador, existen también radicales libres nitrogenados o especies reactivas de nitrógeno (Guija, E., Inocente, M., Ponce, J., & Zarzosa, E, 2015).

II.6.1. Propiedades de los radicales libres

Un radical puede reaccionar con otro radical y no se verá afectado por su ambiente molecular; es decir, no le afecta el cambio de polaridad de los disolventes, no se solvatan (no se rodean de moléculas de disolvente cuando están en solución),

por lo que son entidades puntuales (más pequeñas), no reacciona con hidrógenos, lo que significa que en las reacciones vía radicales libres no son necesarias protecciones de grupos funcionales, una consecuencia directa de la neutralidad de los radicales es que su estabilidad no se ve afectada por la electronegatividad de los grupos funcionales adyacentes al centro radical, con un grupo electroattractor adyacente puede ser tan estable como aquel que posee un grupo electrodonador como vecino(Guija, E., Inocente, M., Ponce, J., & Zarzosa, E, 2015).

II.6.2. Actividad Antioxidante

La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa (por ejemplo, la peroxidación lipídica), de tal manera que un antioxidante actúa principalmente, debido a su capacidad para reaccionar con radicales libres recibe el nombre de antioxidante terminador de cadena(Londoño, J, 2012).

Los antioxidantes son compuestos que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas, los antioxidantes naturales constituyen un amplio grupo que incluye principalmente compuestos polifenólicos y vitaminas. En la actualidad, numerosas enfermedades se asocian con la formación de oxígeno reactivo y la inducción de peroxidación lipídica. Las especies de oxígeno reactivo constituyen un mecanismo de injuria tisular y son relevantes en procesos de inflamación y envejecimiento, en trastornos cardiovasculares y neurodegenerativos, esto ha conducido a una intensa investigación del uso de los antioxidantes presentes en los alimentos, así como de los procedentes de otras fuentes para la prevención de este tipo de enfermedades, por otra parte el interés de los antioxidantes no solo reside en su utilidad como fármacos, sino también en su uso como aditivos industriales, fundamentalmente se utilizan como conservantes de alimentos, plásticos, caucho, cosméticos, aceites y grasas industriales(Londoño, J, 2012).

Cuando la defensa antioxidante es insuficiente para proteger el organismo del efecto dañino de los radicales libres pueden conducir al estrés oxidativo, condición que está estrechamente vinculado a una gran diversidad de patologías como la

psoriasis, cáncer, diabetes mellitus, aterosclerosis, cataratas, hipertensión arterial(Londoño, J, 2012).

II.6.3. Mecanismos de acción de la actividad antioxidante

En la pérdida de hidrógeno el radical libre interactúa con otra molécula que sirve como una donadora de hidrógeno, como resultado, el radical libre se une a un átomo de hidrógeno y se hace más estable, mientras que la donante del hidrógeno se convierte en un radical libre. El radical libre se une a una molécula más estable, lo que convierte a la molécula receptora en un radical libre, dos radicales libres reaccionan entre sí para formar un compuesto más estable y la desproporción consiste en que dos radicales libres idénticos reaccionan entre ellos mismos: uno actúa como donador y el otro como receptor de electrones, de esta manera se forman dos moléculas más estables(Londoño, J, 2012).

II.7. MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los métodos más aplicados son ABTS (azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) y DPPH (DifenilPicrilHidrazilo), ambos presentan una gran estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias, el DPPH es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato potasio, ABAP), enzimática (peroxidasa, mioglobulina), o también electroquímica. Con el ABTS se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico, y el DMPD (N, N-dimetil-p-fenilendiamina) solo en medio acuoso. El radical ABTS tiene, además, la ventaja de que su espectro presenta máximos de absorbancia a 414, 654, 754 y 815 nm en medio alcohólico, mientras que el DPPH presenta un pico de absorbancia a 515 nm, y el DMPD a 505 nm(Londoño, J, 2012).

II.7.1. Método DPPH (Difenil Picril Hidrazilo)

El método de eliminación de radicales libres de α -difenil- β -picril hidrazilo (DPPH) ofrece el primer enfoque para evaluar el potencial antioxidante de un compuesto, un extracto u otras fuentes biológicas, este es el método más simple en el que el

compuesto o extracto prospectivo se mezcla con una solución de DPPH y la absorbancia se registra después de un período definido(Molyneux, P, 2004).

El fundamento de esta técnica consiste en la medición a 517 nm de la variación de absorbancia debida a la reducción del radical libre estable 1,1- difenil-2-picril hidrazilo (DPPH). El radical DPPH es un radical libre estable a causa de la deslocalización de un electrón desapareado en la molécula y por esta razón dicha molécula no se dimeriza, esta deslocalización da a la molécula un color violeta intenso. La absorbancia característica de este radical que posee un color violeta intenso, disminuye con la presencia de un antioxidante u otro radical(Molyneux, P, 2004).

Es posible cuantificar la capacidad captadora de radicales libres que poseen determinados compuestos mediante la determinación del grado de decoloración que producen a una solución metanólica de DPPH. La molécula 1,1-difenil-2-picril hidrazilo (DPPH) se caracteriza porque esta no dimeriza, como en la mayoría de casos de radicales libres. La deslocalización da lugar al color violeta oscuro, caracterizado por poseer una banda de absorción en solución alcohólica aproximada a 520 nm, cuando una solución de DPPH se mezcla con una sustancia que pueda donar un átomo de hidrógeno, da lugar a la forma reducida acompañado de la pérdida del color violeta y la aparición de un color amarillo pálido debido a la presencia del grupo picrilo(Molyneux, P, 2004).

El IC50 se calcula como una reducción del 50% en la absorbancia ocasionada por la muestra en comparación con el blanco es decir la capacidad que tiene la muestra para inhibir el 50% de los radicales libres de la solución DPPH(Molyneux, P, 2004).

II.8. CAÑA FISTULA O CARAO

Cassia grandis L.f. o caña fístula es un árbol conocido en otros países como carao, ducha rosa o cañadonga, se le atribuyen propiedades anti anémicas, mide hasta 30 metros de alto con extensas ramas, nativo de Centro América, Caribe y norte de Sudamérica, encontrándose en terrenos abiertos, bordes de caminos y

pastizales. Su hábitat se ubica en sitios muy húmedos, generalmente cerca de ríos y arroyos(Col., Witsberg, 1982).

La pulpa de la fruta es de sabor dulce, pero de un olor fuerte y se le atribuyen propiedades laxativas y estimulantes, las hojas y flores se han usado en remedios caseros, de sus raíces se puede extraer un líquido antiséptico(Col., Witsberg, 1982).

Al fruto de caña fístula desde la antigüedad se le reconoce como suplemento alimenticio para las personas que padecen de anemia; de este fruto ya se extraen ciertas formas farmacéuticas para suplir esta deficiencia. Un estudio de 3 años confirmó la eficacia del carao contra la anemia. La hemoglobina fue aumentada hasta 130% en tres semanas(Parra, Col. y, 2000).

II.8.1. Usos etnobotánicos

La decocción de las hojas, la fruta y la corteza se usa por vía oral para tratar anemias, hemorragias nasales, enfermedades hepáticas, infecciones del tracto urinario, resfriados y tos, ungüento de hojas aplicado tópicamente se usa para tratar afecciones dermato-mucosas: herpes, llagas, tiña y vitíligo(Morton, 1977).

(Nelson CH., 2014)Expresa que: Los extractos de raíz, se obtiene un antiséptico líquido que se usa para curar heridas. Además, la corteza se usa para curar. A las hojas y frutos se les atribuyen efectos antianémicos, antifúngicos, antisépticos, astringentes, depurativos, diuréticos, estimulantes, expectorantes, laxantes, mineralizantes, pectorales, purgantes, sedantes y tónicos.

El jugo de las hojas se usa para combatir la tiña. La decocción de las hojas se usa como laxante y para lumbago. Las preparaciones de raíces se atribuyen efectos febrífugos, laxantes y tónicos. Se cree que la corteza del tronco y las ramas grandes tiene propiedades antirreumáticas y se usa para tratar afecciones de la piel. En Filipinas, las hojas se usan para infecciones fúngicas de la piel (Cáceres A., 1996).

II.8.2. TAXONOMÍA

Tabla iii. Taxonomía de *Cassia grandis L.f*

Nombre científico	<i>Cassia grandis L.f</i>
Género	Cassia L.
Familia	FabaceaeLindl
Orden	FabalesBromhead
Superorden	RosanaeTakht
Subclase	MagnoliidaeNovák ex. Takht
Clase	Equisetiopsida C. Agardh
Nombres comunes	Caña fístula, ducha rosa, cañadonga, carao

Fuente:(Pino JA. , 2010)

II.8.3. CARACTERES BOTÁNICOS

La caña fístula es un árbol que crece de 15 a 30 m de altura, con una anchura de 45 a 100 cm con un eje cilíndrico que se ramifica desde el centro, corona redonda con unos 8 m de diámetro, su corteza es lisa, de color gris marrón, 30 mm de espesor, las hojas están compuestas y alternas con 15 a 20 pares de folíolos opuestos, de 2 a 5 cm de largo y 1 a 1,5 cm de ancho, base redondeada y verde, las inflorescencias tienen 15 flores, de color rosa intenso, las semillas miden de 2 a 4 cm de largo y de 1,5 a 2,5 cm de ancho y la vaina que contiene puede alcanzar hasta 75 cm de longitud(Ramos, 2014).

Los frutos de caña fístula conocidos como sándales probablemente son la característica más notable del árbol, al igual que todos los árboles de la gran familia de las Leguminosas, los frutos del carao son legumbres, que en este caso alcanzan hasta los 50 cm de largo y hasta más de 4 cm de grosor. Los sándales son de cascara gruesa y dura, de color verde claro cuando están tiernos, al madurarse se vuelven negros, pueden permanecer en la copa del árbol hasta un año, es muy común que en la copa de los árboles los nuevos frutos se mezclen con los del año anterior. Los frutos no se abren, sino que al madurar caen, internamente el fruto está dividido en una gran cantidad de celdas circulares separadas por una pared leñosa. En el interior de cada celda se encuentra una semilla dentro de un líquido espeso de color café, de olor muy penetrante y sabor(Ramos, 2014).

II.8.4. Floración

Las inflorescencias son racimos terminales y axilares de flores rosadas a lo largo de toda la rama. Tienen un aroma dulce. Florece de febrero a marzo. Presenta vainas de sección ovalada, de cáscara dura con unos 60-70 cm de largo y 3-4 de grueso, presentan una costilla prominente en la sutura dorsal y 2 en la ventral, de color verde claro cuando están tiernas y negras al madurar. Internamente, el fruto está dividido en una gran cantidad de celdas planas separadas por una pared leñosa. En el interior de cada celda se encuentra una semilla inmersa en una masa negra y melosa de color café oscuro, de olor muy penetrante y sabor muy particular, agradable a algunas personas y desagradable para otras. Las semillas miden poco más de 1 centímetro de largo, tienen forma de almendras y su cubierta o cáscara es muy dura, lisa y de color café rojizo (Ramos, 2014).

Tabla iv. Descripción Botánica

Familia	Fabaceae
Nombre científico	<i>Cassia grandis</i>
Autor	L.f.
Etimología	Cassia, nombre genérico que proviene del griego antiguo kassía, nombre de la planta laurácea Cinnamomum Cassia, en los antiguos, y pasado a Leguminosas por Caesalpinio
Nombre común	Caña fístula
Origen	Nativa
Continente	Centro América, Sur América
Distribución geográfica	América tropical
Altura máxima (m)	20
Diámetro (cm)	70
Amplitud de copa	Amplia (mayor que 14 m)
Atributos foliares	Miden entre 20-30 cm de largo, folíolos 12-20 pares, de borde entero, glabros por la haz y pubescentes por el envés
Persistencia hoja	Caducifolia
Atributos florales	Con forma de copa, miden cerca de 1,2 cm de largo y con 5 pétalos ovados.
Estación de floración	Época seca
Sistema de polinización	Insectos
Limitaciones flores	Carnosas: al caer, afecta la movilidad de peatones, Masivas: al caer, afecta la movilidad de peatones y vehículos

Limitaciones frutos en espacios públicos	Pesados
Atracción fauna	Alta
Tasa de crecimiento	Rápida
Longevidad	Media (36 - 60 años)
Zonas de humedad	Seca, Húmeda
Tipo de suelo	Soporta suelos infértiles
Uso	La madera se utiliza para postes, cercas y ebanistería
Función	Alimento para la fauna, Fruto comestible, Ornamental, Sombrío

Fuente: (Lafourcade Prada A, 2014)

II.8.5. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Cassia grandis L.f. se distribuye desde México hasta el norte de Suramérica. En Colombia se ha reportado en los departamentos de Antioquia, Atlántico, Bolívar, aunque no es una especie endémica del Ecuador, la caña fístula crece en zonas de la Costa, como Guayaquil, Durán, Yaguachi, Milagro Babahoyo, Jujan, Churute y Zapotal, donde existen unos doscientos árboles que crecen en los bosques tropicales secos y húmedos.

Fuente: Google maps

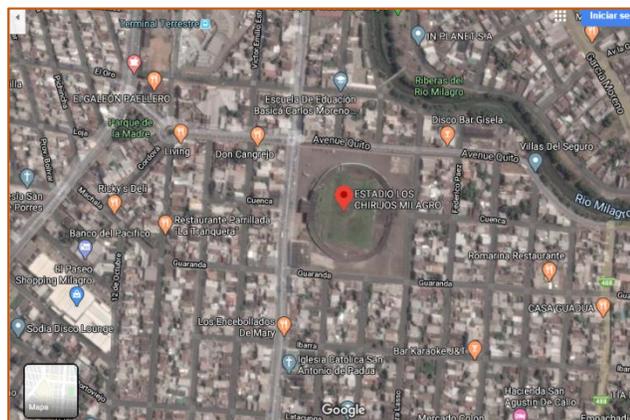


Ilustración iii. Ubicación geográfica

II.8.6. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Los estudios de caracterización química demuestran la presencia de esteroides, terpenos, aceites esenciales, azúcares reductores, aminoácidos, aminas, saponinas, glicósidos y polisacáridos. También posee minerales tales como potasio, magnesio, cobalto, hierro y níquel (Meena MK, Pal SC, Jain AK, Jain CP, Ashawat MS, Gaur K., 2010).

Existe una gran variabilidad en la composición de los metabolitos de los diferentes órganos de la planta, principalmente debido a las diferencias en las condiciones en que crecen. Un examen fitoquímico realizado en las hojas mostró la presencia de carbohidratos, alcaloides, esteroides, antraquinonas, saponinas, flavonoides, glucósidos y taninos (Meena MK, Pal SC, Jain AK, Jain CP, Ashawat MS, Gaur K., 2010).

Los estudios cuantitativos de caracterización química del polvo seco de la fruta muestran la presencia de triterpenos y esteroides, aceites esenciales, azúcares reductores, aminoácidos, aminas, saponinas, polisacáridos y glucósidos. También existe la presencia de minerales como potasio, magnesio, cobalto, hierro y níquel (Águila Y., 1999.).

Las antraquinonas son un tipo de metabolito extendido en el género Cassia, y se ha informado en todos los órganos de las plantas. El fruto contiene 1, 3,4-trihidroxi-6, 7,8-trimetoxi-2-metilantraquinona; 3-O- β -D-glucopiranosido. Los tallos contienen emodin-9-anthrone; y las semillas contienen crisoptanol; 1,2,4,8, -tetrahidroxi-6-metoxi-3-metilantraquinona; 2-O- β -D-glucopiranosido; 3-hidroxi-6,8-dimetoxi-2-metilantraquinona; 3-O- β -D-glucopiranosido y 1,3-dihidroxi-6,7,8-trimetoxi-2-metilantraquinona-3-O- β -D-glucopiranosido (Siddiquia IR, Singha M, Gupta D, Singha J. , 1993).

Las hojas contienen alcaloides tales como kokusagine (6, 7-dimetoxifuroquinolina) y 1, 1-bipiperidina. Estos compuestos también se encuentran en la fruta.

De las hojas de *Cassia grandis L.f.*, se aislaron varios compuestos C6-C3, tales como trans-3-metoxi-4,5-metilen-dioxicinamaldehído; 2,4-dihidroxibenzaldehído; 3, 4,5-trimetoxibenzaldehído; 2, 4,6-trimetoxibenzaldehído, las hojas también contienen barakol, kaempferol, leucoantocianidinas y saponinas. El follaje contiene polifenoles (5,61%), taninos (3,59%), proteínas precipitables de taninos (3,64%) y taninos hidrolizables (0,28%) (García de, Medina MG, Humbría J, Domínguez C, Baldizán A, Cova L, 2006).

La fruta contiene ácido cinámico y azúcares(Correa QJE, Bernal MHY., 1990). También posee saponinas, fenoles, taninos y aminoácidos(Vizoso PA, Ramos RA, García LA, Piloto FJ, Pavón GV. i, 2000). Otros compuestos aislados de la fruta son centaureidina, catequina, miristina, 2,4-dihidroxibenzaldehído; 3, 4,5-trimetoxibenzaldehído; 2, 4,6-trimetoxi benzaldehído y β -sitosterol. Los estudios de las fracciones volátiles de este órgano, en especies que crecen en Cuba, muestran que esta es una planta grande que produce aceites con un total de 108 compuestos, y reporta un rendimiento de 30.47 mg / kg. Un componente principal es el linalol, con el 31,5% de los componentes volátiles(Pino JA. , 2010).

Las semillas contienen flavonoides y polisacáridos, especialmente un galactomanano puro, el endospermo de la semilla contiene el 50% de una goma que se utilizó como aglutinante en el proceso de fabricación de tabletas. Los tallos contienen principalmente tres compuestos: ácido palmítico, β -sitosterol y emodin-9-anthrona(Lafourcade Prada A, 2014).

II.9. GENERALIDADES DE LAS GLUCOSIDASAS

Son una clase de las enzimas hidrolasas, las cuales están involucradas en la catálisis de reacciones hidrolíticas de diferentes tipos de sustrato como ácidos fosfóricos, esteres de ácidos carboxílicos, éteres, péptidos y carbohidratos mediante la utilización de agua en su proceso. Las glucosidasas son enzimas de importancias en la industria alimentaria, química y farmacéutica(Bernal Rodríguez, C , 2012).

II.9.1. ENZIMA α -GLUCOSIDASA

Las α -glucosidasas se encuentran en una gran variedad de seres vivos, como animales, plantas, bacterias y hongos. Tanto las propiedades de la enzima como el sustrato va depender de gran medida del origen donde haya sido obtenido (Van de Laar, F., Lucassen, P., Akkermans, R., Van de Lisdonk, E., Rutten, G & Van Weel, C. , 2005).

En los seres humanos, las α -glucosidasas se encuentran presente en dos isoformas: EC 3.2.1.3 y EC 3.2.1.20, las dos son codificadas por el gen GAA (glucosidasealpha, acid). La función principal de estas isoformas es hidrolizar los enlaces α (1,4 y 1,6) de oligosacáridos y disacáridos dejando en libertad una unidad de α D-glucosa como producto de su acción (Aguilera, M., Reza, M., Chew, R., & Meza, V. , 2011).

La isoforma EC 3.2.1.3 se encuentra presente en la mayoría de las células del organismo cumpliendo funciones específicas del catabolismo; por otra parte, la isoforma EC 3.2.1.20 se presentan en las vellosidades del intestino delgado, es una de las enzimas clave involucradas en el metabolismo y digestión de los carbohidratos, en la última etapa de la digestión en los seres humanos (Avellaneda, I. , 2013).

II.9.2. INHIBIDORES DE α -GLUCOSIDASA

La inhibición de α -glucosidasa reduce la hiperglucemia postprandial y la secreción de insulina. Se sabe que son inhibidores de α -glucosidasa porque disminuyen el pico máximo de glucosa post-prandial. Estudios demuestran que también hacen posible la disminución del peso corporal (Konya H., Katsuno T., Tsunoda T., Yano Y., Kamitani M., miuchi M., 2013).

II.9.3. DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2)

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad endocrino-metabólica con un severo impacto multidimensional, desde su alarmante panorama epidemiológico, hasta las modificaciones en la calidad de vida de cada uno de los pacientes afectados. La prevalencia de este trastorno ha incrementado dramáticamente, de

108 millones de individuos a nivel mundial en el año 1980, hasta aproximadamente 422 millones para el año 2014, representando una prevalencia de 8,5%. También se estima que anualmente, aproximadamente 1,5 millones de muertes son directamente producidas por la DM2 y hasta 2,2 millones son atribuibles a alguna forma de hiperglicemia(World Health Organization, 2016).

La Diabetes Mellitus tipo 2 se considera una de las enfermedades crónicas con mayor impacto en la calidad de vida de la población mundial y constituye un verdadero problema de salud; pertenece al grupo de las enfermedades que producen invalidez física por sus variadas complicaciones multiorgánicas, con un incremento indudable en la morbilidad y mortalidad en los últimos años, independientemente de las circunstancias sociales, culturales y económicas de los países(Bautista Rodríguez LM, Zambrano Plata GE. , 2015).

Conceptualmente se define como un síndrome heterogéneo originado por la interacción genético-ambiental y caracterizado por una hiperglucemia crónica, como consecuencia de una deficiencia en la secreción o acción de la insulina, que desencadena complicaciones agudas (cetoacidosis y coma hiperosmolar), crónicas microvasculares (retinopatías y neuropatías) y macrovasculares (cardiopatía coronaria, enfermedades cerebrovasculares y vasculares periféricas)(Menéndez Torre E, Lafita Tejedor J, Artola Menéndez S, Núñez Cortes JM, Alonso García A, Puig Domingo M, 2011).

Se estima que cerca de 4 millones de muertes al año están relacionadas directamente con esta afección (lo que equivale a una de cada 20 muertes, 8 700 muertes cada día y 6 cada minuto) avalado por los cambios en los estilos de vida de la población, asociados al sedentarismo, la obesidad, la hipertensión arterial y otros factores de riesgo cardiovasculares. Por esas razones, ocupa la cuarta causa de muerte en todo el universo(Pereira Despaigne OL. , 2015).

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación es de tipo explicativo con enfoque cuantitativo.

III.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

1. Certificación de la planta.
2. Determinación de humedad y cenizas totales por métodos oficiales de la AOAC.
3. Determinación de sólidos totales al extracto acuoso y etanólico.
4. Determinación de Polifenoles Totales por el método de Folin-Ciocalteu
5. Determinación de Actividad Antioxidante por el método de DPPH por espectrofotometría.
6. Evaluación de alfa-glucosidasa por espectrofotometría.

III.3. RECOLECCIÓN DEMUESTRA

Se recolectaron 2 kilogramos de corteza de la especie *Cassia grandis* L.f para obtener una muestra representativa y de trabajar durante los meses de octubre a noviembre del 2019.

Ubicación: Carlos Julio Arosemena Monroy y Galo Plaza Lazo.

Cantón y Provincia: Milagro, Guayas



Ilustración iv. *Cassia grandis* L.f

III.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

- Cortezas limpias
- Buen estado
- Libre de insectos

III.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

III.5.1. HUMEDAD

La humedad del tallo fresco se determinó por el método oficial de la AOAC 930.05, según el cual la muestra se somete a desecación en las condiciones definidas, que varía en función de la naturaleza del alimento. Dicho método consiste en la determinación de la pérdida de peso de la muestra mediante desecación de la misma en una estufa, a una temperatura de ± 60 °C, dejando secar hasta alcanzar un peso constante. Es aconsejable proceder a una pre-desecación ya que se trata de alimentos sólidos que tienen un elevado contenido en humedad. Los equipos y reactivos que se utilizaron en esta técnica fueron: balanza analítica y estufa de secado además de material genérico de laboratorio (pinzas, espátulas, vidrios de reloj, cápsulas de porcelana (AOAC, 1990).

Se pesó 5 g de muestra fresca en las placas de aluminio y se puso a secar a 105°C durante una hora, para luego desecar a 65°C hasta tener un peso constante, introduciendo la muestra en el desecador antes de proceder a su pesada. Los resultados se expresan el porcentaje de humedad calculados según lo indica la FAO (AOAC, 1990).

$$\% \text{ Humedad} = [(P_i - P_f) / P_m] \times 100$$

P_i: Peso de muestra + peso placa al inicio; P_f: Peso de muestra + peso placa tras el secado y P_m: Peso muestra (Arancela, 2015).

III.5.2. CENIZAS

Para la determinación de cenizas se sigue el método 923.03 de la AOAC. Se calcina/incinera la muestra tras su desecación, a 550°C en la mufla y se calcula el

residuo de incineración por diferencia de peso. Los equipos y reactivos que se utilizaron fueron: balanza analítica, mufla, desecador, pinzas y crisoles. Los resultados se expresan como porcentaje de cenizas calculado según la expresión como lo indica la FAO (AOAC, 1990).

$$\% \text{Cenizas} = [(\text{Peso final} - \text{Peso inicial}) / \text{Peso muestra}] \times 100$$

II.5.3. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES

Se realizó a partir de 2 ml de extracto homogéneo, los cuales se transfirieron a una cápsula de porcelana previamente tarada, limpia y seca. Posteriormente se trasladó a una estufa con una temperatura de 105 +/- 2°C durante 3 horas, hasta evaporación del disolvente y peso constante. Se retiró el sistema (cápsula-muestra) de la estufa y se la colocó en un desecador hasta que alcanzó la temperatura ambiente y se procedió a pesar en una balanza previamente tarada. Todo este proceso se lo realizo por triplicado

La cantidad de sólidos totales (St), expresados en %, se calculó por la expresión siguiente:

$$St = \frac{Pr - P}{V} \times 100$$

Donde

Pr = masa de la cápsula más el residuo (g)

P = masa de la cápsula vacía (g)

V = volumen de la porción de ensayo (mL)

100 = factor matemático

III.5.4. IDENTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES

III.5.4.1 Equipos y reactivos

- Balanza analítica
- Centrífuga
- Espectrofotómetro
- Reactivo de Folin-Ciocalteu
- Extractos: Etanólico y Acuoso

III.5.4.2 Preparación de reactivos

Solución patrón: se pesó 12,5 mg de ácido gálico en matraces volumétricos de 25 ml y se llevó a volumen con agua destilada, la concentración será de 500 mg/l esto se realizó por triplicado.

Solución de Carbonato de Sodio al 10%: se pesó 10 g de Na_2CO_3 y se llevó a un matraz volumétrico de 100 ml con agua destilada en caliente, se enfrió y se filtró.

Solución de Folin-Ciocalteu: se tomó 5 ml del reactivo FCR que es una mezcla de Fosfomolibdato y Fosfotungstato 2 N y se llevó a volumen en un matraz de 50 ml con agua destilada.

III.5.4.3 Procedimiento

En un tubo de ensayo se adicionó, en el orden mencionado: 40 μl de muestra, 0,5 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu, 2 ml de solución de carbonato sódico y se completan hasta 10 ml con agua destilada. Esperar 20 min y leer a 765 nm.

III.5.5. IDENTIFICACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

III.5.5.1 Equipos y reactivos

- Balanza analítica
- Centrífuga

- Espectrofotómetro Ultravioleta visible Spectronic TM GENESYS TM
- Solución de DPPH
- Extractos: Etanólico y Acuoso

III.5.5.2 Procedimiento

Se preparó una solución de DPPH 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (SIGMA) 0,2 mg/ml en etanol grado reactivo y a 1 ml de cada muestra se le adiciona 1 ml de la solución de DPPH preparada. La absorbancia a 517 nm fue determinada en un espectrofotómetro ultravioleta visible Spectronic TM GENESYS TM, exactamente 30 minutos después de iniciada la reacción, y la decoloración fue comparada con una solución que contenía la misma proporción 1:1 (v/v) de etanol y DPPH. Una solución de extracto y etanol servirá como blanco de la muestra para corregir su color. Los resultados fueron expresados como porcentaje de decoloración de DPPH utilizando la siguiente expresión:

$$\% \text{ AA} = \frac{100 - (\text{LM} - \text{LBM})}{\text{LDPPH}} \times 100$$

En donde:

%AA = porcentaje de actividad antioxidante.

LM = lectura de la absorbancia de la muestra.

LBM = lectura de la absorbancia del blanco de la muestra.

LDPPH = lectura de la absorbancia del DPPH.

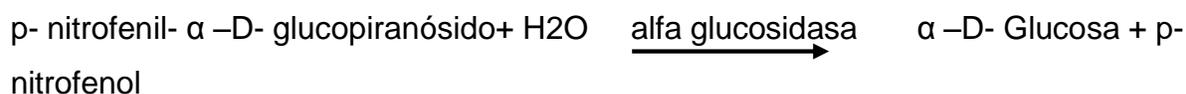
III.6. IDENTIFICACIÓN DE α -GLUCOSIDASA

La actividad enzimática de la α -glucosidasa se determinó por espectrofotometría, evaluando la liberación de 4-p-nitrofenil- α -D-glucopiranosido (PNPG) el cual absorbe a 415 nm. A mayor inhibición de la enzima, menor es la cantidad de p-nitrofenol detectada.

III.6.1. Ensayo de inhibición de la enzima α -glucosidasa

El ensayo de inhibición de α -glucosidasa se basa en la liberación de una molécula de p-nitrofenol como producto del sustrato utilizado p-nitrofenil α -D-glucósido en presencia de la enzima α -glucosidasa.

El fundamento del ensayo se describe en la siguiente reacción:



En donde la actividad de la α -glucosidasa se evalúa indirectamente a través del p-nitrofenol liberado (el cual absorbe a 415 nm). Y una unidad de enzima liberará 1,0 μ mol de D-glucosa y 1,0 μ mol de p-nitrofenol por minuto, a partir de p-nitrofenil α -D-glucósido a pH 6,8 y 37°C. Por lo tanto, se dice que, a mayor inhibición de la enzima, menor es la cantidad de p-nitrofenol encontrada.

III.6.1.2 Preparación de los Reactivos

A. Solución tampón Carbonato de Sodio

Se prepararon 250 ml de solución madre de Carbonato de Sodio; se pesaron 1,33 g de sustancia y se agregó poco a poco a 250 ml con agua destilada, previamente colocados en un vaso de precipitación.

B. 67 mM solución buffer de fosfato de potasio (PBS), pH 6.8 A 37°C

Se prepararon 100 ml en agua destilada usando 67 mM de Fosfato dibásico de Potasio. Se pesaron 0,912 g de sustancia y se aforaron a 100 ml con agua destilada. Se colocó la solución en el pH metro y se ajustó el pH a 6.8 con 1 M HCl.

C. 0,914 mM de solución p-nitrofenil- α -D-glucopiranosido (PNP-G)

Se pesaron 0,028 g de PNP-G y se aforaron en 100 ml de PBS Buffer pH 6.8.

D. Solución enzimática de α -glucosidasa, 5,7 Unidades

Se preparó una solución stock de α -glucosidasa con la cual se preparó una solución de trabajo con 5,7 U.

E. Solución de Acarbosa

Se utilizó una solución de Acarbosa (0.44 mg/mL) como control positivo de inhibición.

III.6.2 Procedimiento para la inhibición de la enzima α -glucosidasa

Se utilizó una micro placa de 96 pocillos donde se colocó 5 μ l de la solución enzimática junto con 5 μ l de inhibidor (muestra), conservándose luego a una temperatura de 37°C por 5 minutos para alcanzar el equilibrio. La reacción química se dio inicio al agregar 140 μ l de p-nitrofenil- α -D-glucopiranosido (PNP-G) (0,914 mM en 2500 μ l de PBS 67 mM). Toda la solución fue incubada a 37°C por 15 minutos. Una vez transcurrido el tiempo de incubación de la muestra, se agregó a cada micro placa 100 μ l de solución de carbonato de sodio para detener por completo la reacción química. Esta micro placa posteriormente fue transferida a un espectrofotómetro lector de micro placas donde las absorbancias fueron registradas a una longitud de onda de 405 nm.

La antepenúltima columna de la placa se destinó para el blanco en el cual se colocaban todos los reactivos excepto la enzima.

Para la última columna de la placa no se colocó inhibidor, definiendo este sistema como el 100% de actividad enzimática

Para calcular el porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente fórmula:

$$[(A_o - A_{blanco}) - (A_{muestra} - A_{blanco})]$$

$$\% \text{ inhibición } \alpha\text{-glucosidasa} = \frac{\quad}{(A_o - A_{blanco})} \times 100$$

Siendo:

A_o= absorbancia del 100% de la actividad enzimática.

A_{muestra} = absorbancia de la muestra o del patrón.

Y el A_{blanco}= como la absorbancia de la muestra o patrón sin la presencia de la enzima.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSION

Al finalizar la parte experimental de esta investigación se obtuvo los siguientes resultados.

IV.1. CERTIFICACIÓN DE LA PLANTA

Tabla v. Certificación de la planta

Reino:	Plantae
Clase:	Equisetiopsida C. Agardh
Subclase:	Magnoliidae Novák ex. Takht
Superorden:	Rosanae Takht.
Orden:	Fabales Bromhead
Familia:	Fabaceae Lindl.
Subfamilia:	Caesalpiaceae
Género:	Cassia L.
Especie:	grandis
Nombre científico:	<i>Cassia grandis</i> L.f.

Fuente: Herbario GUAY

IV.2. PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS

Se determinó humedad y cenizas a la muestra seca de cortezas de *Cassia grandis L.f* (Caña fístula).

IV.2.1 Humedad

Tabla vi. Resultados de Análisis de Humedad

VEGETAL	UNIDADES	RESULTADOS
<i>Cassia grandis L.f</i>	%	15.91

Fuente: Autores

IV.2.2 Cenizas Totales

Tabla vii. Resultados del Análisis de Cenizas Totales

VEGETAL	UNIDADES	RESULTADOS
<i>Cassia grandis L.f</i>	%	1.14

Fuente: Autores

Dando como resultado de humedad de 15.91% y cenizas 1.14%.

IV.2.3 Sólidos Totales

Se determinó sólidos totales a los dos extractos tanto acuoso como etanólico de *Cassia grandis L.f* (Caña Fístula).

Tabla viii. Resultados de la determinación de sólidos totales (extracto acuoso)

Extracto acuoso de <i>Cassia grandis L.f</i> .		
	g/2ml	mg/ml
	0.0506	25.32
	0.0494	24.70
	0.0504	25.20
Promedio	0.0501	25.0733
Desviación estándar	0.0005	0.2684

Fuente: (Autores, 2020).

Tabla ix. Resultados de la determinación de sólidos totales (extracto etanólico)

Extracto etanólico de <i>Cassia grandis</i> L.f		
	g/2ml	mg/ml
	0.0526	26.33
	0.0544	27.20
	0.0510	25.50
Promedio	0.0526	26.3433
Desviación estándar	0.0014	0.694

Fuente:(Autores, 2020)

Tabla x. Concentraciones de sólidos totales de extractos

Extractos	Concentración µg/ul
Extracto acuoso	25.07
Extracto etanólico	26.34

Fuente:(Autores, 2020).

ACUOSO

$$St = \frac{Pr - P}{V} \times 100$$

$$St = \frac{0.0501}{2} \times 100$$

$$St = 2.50\%$$

ETANÓLICO

$$St = \frac{Pr - P}{V} \times 100$$

$$St = \frac{0.0526}{2} \times 100$$

$$St = 2.63 \%$$

Tabla xi. Resultados de sólidos totales en extracto acuoso y etanólico

Parámetro		
	Extractos de <i>Cassia Grandis</i>	
Sólidos Totales (%)	Acuoso	Etanólico
	2.50%	2.63 %

Fuente: (Autores, 2020)

Los sólidos totales (St) fueron mayores en el extracto etanólico con un 2.63 % comparados con el extracto acuoso con 2.50%.

IV.3. Determinación de Polifenoles Totales de *Cassia grandis L.f*

Tabla xii. Extracto Etanólico Folin-Ciocalteu

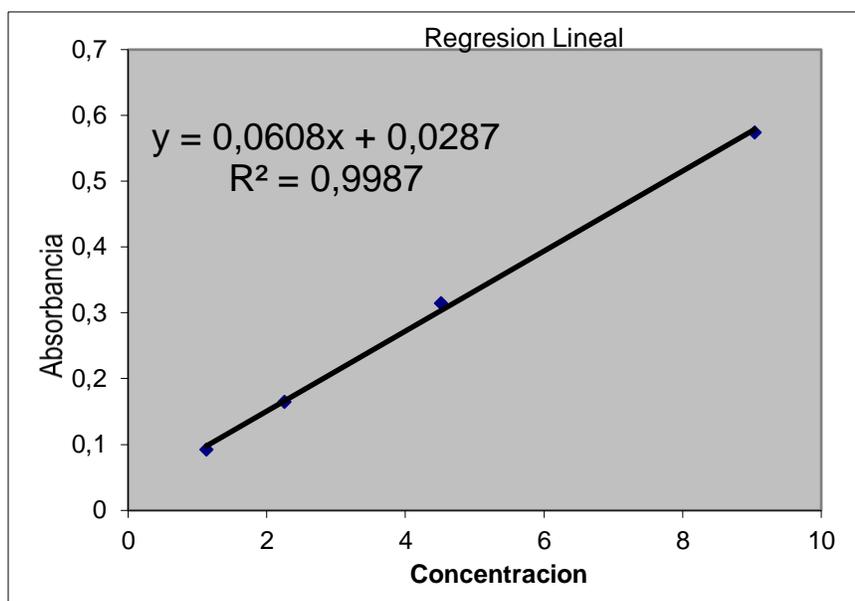
VEGETAL	UNIDADES	RESULTADO
Polifenoles totales de <i>Cassia grandisL.f</i>	%	74.10

Tabla xiii. Extracto Acuoso Folin-Ciocalteu

VEGETAL	UNIDADES	RESULTADO
Polifenoles totales de <i>Cassia grandisL.f</i>	%	83.96

El valor de polifenoles totales en el extracto acuoso de este estudio realizado en la corteza de *Cassia grandis L.f* es de 83.96% mientras que el etanólico es de 74.10%,

se evidencia la diferencia entre estos dos valores que indican la presencia de más sustancias polares y solubles en agua que en etanol.



La curva de calibrado del estándar del ácido ascórbico tiene un correcto coeficiente de R de 0,9987 permitiendo de esta manera una buena cuantificación de los polifenoles en los extractos.

En el 2003 se evaluó la cuantificación de los polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu antes y después del tratamiento de los extractos con Polivinilpirrolidona (Makkar, 2003).

Los resultados en la determinación de compuestos secundarios mayoritarios para *Cassia grandis L.f* presentaron las concentraciones elevadas 5,61%, mientras que en el resto de las Leguminosas los valores oscilaron entre 2,20 y 4,01% los cuales no se consideran tóxicos (Makkar, 2003).

IV.4. Determinación de Actividad Antioxidante de *Cassia grandis L.f*

Tabla xiv. Extracto Etanólico DPPH

VEGETAL	UNIDADES	RESULTADOS	
Actividad		0.12	Ac. Gálico
Antioxidante de	mg/ml	0.45	Ac. Ascórbico
<i>Cassia grandis L.f</i>			

Tabla xv. Extracto Acuoso DPPH

VEGETAL	UNIDADES	RESULTADOS	
Actividad		0.11	Ac. Gálico
Antioxidante de	mg/ml	0.39	Ac. Ascórbico
<i>Cassia grandis L.f</i>			

La actividad antioxidante se determinó por el método del radical de DPPH con valores de Acido Gálico de 0.11 mg/ml, para el Ácido Ascórbico de 0.39 mg/ml para el extracto etanólico y para el extracto acuoso de 0.12mg/ml para Acido Gálico, para el Ácido Ascórbico de 0.45 mg/ml por lo que la mayor actividad antioxidante está presente en el extracto acuoso.

IV.5. Actividad inhibitoria de los extractos acuoso y etanólico de la corteza de *Cassia grandis L.f.* sobre la enzima α -glucosidasa

Los resultados de los ensayos de inhibición de la enzima α -glucosidasas en los extractos acuoso y etanólico de la corteza de *Cassia grandis L.f.* se muestran resumidos en la Tabla 16.

Se puede observar que los extractos presentaron acción inhibitoria en el extracto etanólico con un 47.91% y el extracto acuoso con un 50.03% sobre la enzima, con

estos resultados se demuestra que en los extractos de la corteza *Cassia grandis L.f.* provenientes del Ecuador, existen metabolitos que inhiben la acción de la enzima α -glucosidasa.

La actividad inhibitoria sobre α -glucosidasa estuvo con un porcentaje más altos el extracto acuoso con un 50.03 %, en el porcentaje de actividad Inhibitoria.

Tabla xvi. Actividad inhibitoria de la enzima α - glucosidasa

Especie	Extractos	% Actividad Inhibitoria sobre α -glucosidasa *
<i>Cassia grandis L.f.</i> (caña fistula)	Extracto Etanólico	47.91 \pm 0.260
	Extracto Acuoso	50.03 \pm 0.742
Acarbosa		99.95 \pm 0.001

*Promedio de 4 repeticiones

Elaborado por autores

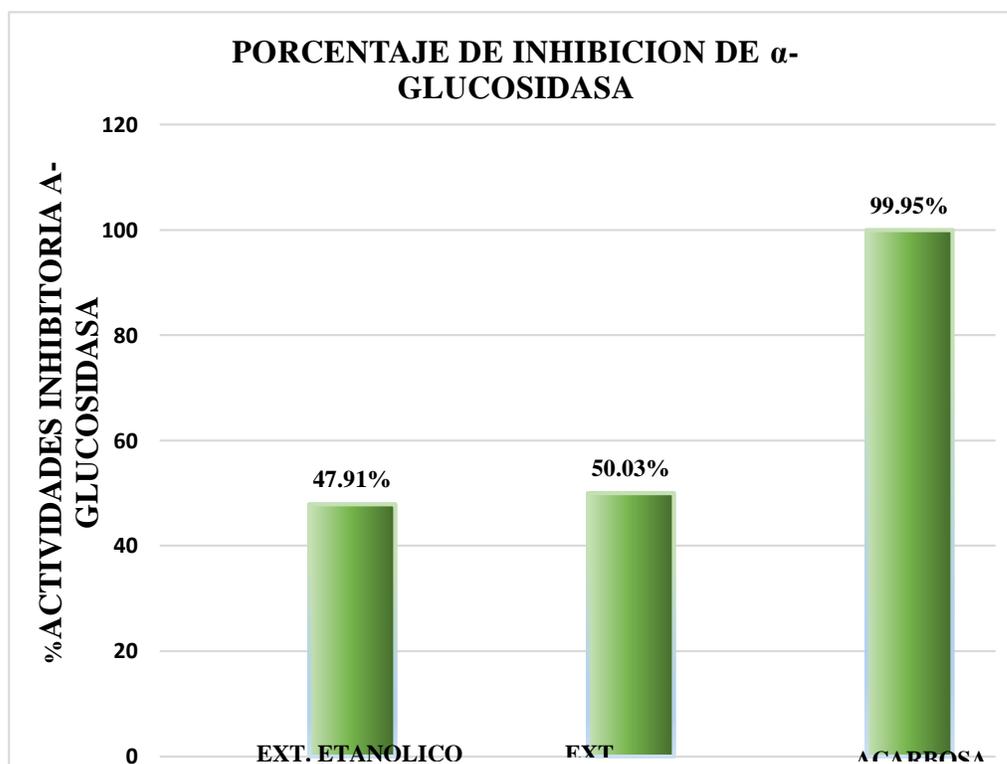


Figura i. Efecto inhibitorio de los extractos acuoso y etanólico de la corteza de

Cassia Grandis L.f frente al control positivo (Acarbosa).

En la Figura i se muestra el efecto inhibitorio de los extractos acuoso y etanólico de la corteza de *Cassia grandis L.f.* frente al control positivo que contiene Acarbosa sobre la actividad de la α -glucosidasa. El extracto Acuoso tuvo un porcentaje de 47.91% mientras que el extracto etanólico tuvo un porcentaje de 50.03% frente a la Acarbosa que obtuvo el 99.95%.

Tabla xvii. Valores de sólidos totales utilizados en el ensayo enzimático.

Extractos		Volumen μ L	Sólidos totales mg/ml	Porcentaje de inhibición
<i>Cassia grandis L.f.</i> (caña fistula)	acuoso	5 ul	32.07 \pm 0.0005	50.03 \pm 0.742
	etanólico	5 ul	34.34 \pm 0.0014	47.91 \pm 0.260

Fuente:(Autores, 2020)

DISCUSIÓN

Schäfer y Högger proponen que: Las altas concentraciones de cualquier extracto vegetal siempre inhibirán las enzimas por inhibición no específica, aunque esto no ha demostrado (Schäfer, A., & Högger, P, 2007).

Según Yamahara J, 2005 expresa que: los inhibidores de la alfa-glucosidasa como, Acarbosa y Miglitolsol medicamentos que ayudan a mantener la glucosa en sangre dentro de los valores normales. Estos medicamentos actúan reduciendo la tasa de conversión de carbohidratos complejos en sus monosacáridos. El aumento lento de la glucosa en sangre se puede controlar fácilmente, por esta razón, las sustancias con efecto inhibitor de la α -glucosidasa son excelentes candidatos para el tratamiento complementario de la diabetes(Li Y., Wen S., Prasad KB, Peng G., Qian LG, Yamahara J, 2005).

En el estudio realizado por Chaiyasut C, 2009 expresa que el extracto hidroalcohólico de pulpa *Cassia grandis L.f.* dio como resultado un IC₅₀ 32.30 μ g /

ml y Acarbosa, el fármaco de referencia dio un IC_{50} $62,30 \pm 1,30$ $\mu\text{g/ml}$. Por otro lado, se informó que los compuestos antioxidantes como Fenólicos, Flavonoides, Cumarinas (compuestos presentes en el extracto *Cassia grandis L.f*), podrían impedir que los carbohidratos se unan a la α -glucosidasa, produciendo una potente inhibición enzimática (Kusirisin W., Srichairatanakool S., Lertrakarnnon P., Lailerd N., Suttajit M., Jaikang C., Chaiyasut C, 2009).

CONCLUSIONES

- Los parámetros farmacognósticos que caracterizan a la corteza de esta especie fueron: humedad 15.91%, cenizas 1.14% y sólidos totales del extracto acuoso de 2.50%. y etanólico 2.63%; se obtuvo un mayor porcentaje de sólidos totales para el extracto etanólico.
- El ensayo de Folin–Ciocalteu mostró un valor de contenido de compuestos fenólicos en el extracto acuoso de 83.96% mientras que en el extracto etanólico de 74.10%.
- La actividad antioxidante se determinó por el método del radical de DPPH con valores de Acido Gálico de 0.12 mg/ml, para el Ácido Ascórbico de 0.45 mg/ml para el extracto etanólico y para el extracto acuoso: 0.11mg/ml para Acido Gálico, para el Ácido Ascórbico de 0.39 mg/ml por lo que la mayor actividad antioxidante está presente en el extracto acuoso.
- En la corteza de *Cassia grandis L.f* el extracto que presentó mayor actividad frente a la enzima α -glucosidasa fue el extracto acuoso con un porcentaje de inhibición de 50.03% y el extracto etanólico con 47.91% frente al control positivo (Acarbosa) que obtuvo el 99.95%.

RECOMENDACIONES

- Efectuar investigaciones utilizando sus hojas, flores, frutos y raíz para determinar polifenoles y actividad antioxidante.
- Realizar estudios sobre que moléculas son las que tienen actividad farmacológica o actividad antioxidante presentes en la corteza de *Cassia Grandis L.f*
- Se debe evaluar la actividad inhibitoria en extractos Hidroalcohólicos, comparando la eficiencia con extractos acuosos y alcohólicos.
- Finalmente, se deberá seguir realizando estudios para identificar el/los metabolitos que ejercen el efecto inhibitorio sobre la α -glucosidasa.

GLOSARIO

ABTS: el ácido 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) o ABTS es un compuesto químico utilizado para observar la cinética de reacción de enzimas específicas.

Acarbosa: es una droga terapéutica que inhibe la alfa glucosidasa de manera reversible, competitiva y de manera dosis dependiente. Al inhibirla, retrasa la hidrólisis intestinal de oligosacáridos y disacáridos, principalmente en la mitad superior del intestino delgado.

Actividad farmacológica: o actividad biológica son los efectos benéficos o adversos de una droga sobre la materia viva. Cuando la droga es una mezcla química compleja, esta actividad es ejercida por los principios activos de la sustancia o farmacólogos, pero puede ser modificado por los otros constituyentes

Alfa-glucosidasa: es una de las enzimas clave involucradas en el metabolismo y digestión de los carbohidratos en los seres humanos, está presente en el borde del cepillo del intestino delgado.

Capacidad o actividad antioxidante: habilidad de los compuestos antioxidante para captar y estabilizar los radicales libres.

***Cassia grandis* L.f.:** también conocido como caña fístula, carao es un árbol natural de América Central y las zonas costeras de las Antillas que se utiliza para el tratamiento de enfermedades del pecho y como bebida con muchas propiedades nutritivas.

Cetoacidosis: Es un estado metabólico asociado a una elevación en la concentración de los cuerpos cetónicos en la sangre, que se produce a partir de los ácidos grasos libres y la desanimación (liberación del grupo amino) de los aminoácidos.

Coma hiperosmolar: Es una de las complicaciones agudas de la diabetes mellitus (DM caracterizado por el déficit relativo de insulina y resistencia a la insulina) que origina una hiperglucemia importante, diuresis osmótica y deshidratación.

Compuestos Fenólicos: son compuestos orgánicos en cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido a lo menos a un grupo hidroxilo.

Crónicas macrovasculares: Lesiones de vasos sanguíneos más grandes, las complicaciones de enfermedades cardiovasculares, como los ataques cardíacos, los accidentes cerebrovasculares y la insuficiencia circulatoria en los miembros inferiores.

Crónicas microvasculares: Lesiones de los vasos sanguíneos pequeños, las complicaciones microvasculares son lesiones oculares (retinopatía) que desembocan en la ceguera; lesiones renales (nefropatía) que acaban en insuficiencia renal y lesiones de los nervios que ocasionan impotencia y pie diabético

Diabetes Mellitus tipo 2: es una enfermedad en la cual la persona no fabrica suficiente insulina o no la utiliza de forma correcta.

Dorsifijos. - Lo fijo o adherido por el dorso, no por el ápice, ni por la base.

DPPH: Abreviatura del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil. Este es un radical libre estable soluble que es neutralizado mediante un mecanismo de transferencia de hidrógeno.

Espectrofotometría: es un método científico utilizado para medir cuánta luz absorbe una sustancia química, midiendo la intensidad de la luz cuando un haz luminoso pasa a través de la solución muestra, basándose en la Ley de Beer-Lambert.

Flavonoides: es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas. La estructura base, un esqueleto C6-C3C6, puede sufrir posteriormente muchas modificaciones y adiciones de grupos funcionales, por lo que los flavonoides son una familia muy diversa de compuestos.

Folin-Ciocalteu: El reactivo es una mezcla de Fosfomolibdato y Fosfotungstato, usado para la determinación de antioxidantes fenólicos y polifenólicos.

Glucósidos. - Son moléculas compuestas por un glúcido (generalmente monosacáridos) y un compuesto no glucídico.

Glucosa postprandial. - es la detección de niveles de azúcar en la sangre después de haber ingerido comida

Inhibidores enzimáticos: son sustancias que interfieren con la actividad de una enzima. Por medio de los inhibidores, una célula puede regular cuáles enzimas están activas y cuáles inactivas en un momento dado.

Lenticeladas. -es una protuberancia del tronco y ramas de los árboles.

Oblongo. - tiene mayor longitud que anchura.

Pubescente. - cualquier órgano vegetal que presenta su superficie vellosa, cubierta de pelos finos y suaves.

Saponinas.- son un grupo de glucósidos oleosos, los cuales son solubles en agua produciendo espumosis cuando las soluciones son agitadas.

Terpenos. -son hidrocarburos complejos de forma general C_nH_{2n-4} , de la serie del isopreno, el que está formado por dos dobles enlaces y que unidos por cadenas orgánicas forman un grupo de compuestos con características propias y que determinan la variedad de los efectos terapéuticos que se presentan en las plantas que los contienen.

Zigomorfos. - Que tiene simetría bilateral, es decir, un solo plano de simetría.

ANEXOS

Herbario GUAY
Facultad de Ciencias Naturales
Universidad de Guayaquil

Clase: Equisetiopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex. Takht.

Superorden: Rosanae Takht.

Orden: Fabales Bromhead

Familia: Fabaceae Lindl.

Género: *Cassia* L.

Nombre científico: *Cassia grandis* L.f.

Código GUAY: 13.445



1

Av. Juan Tanca Marengo y Av. Gómez Lince s.n.
P.O. Box 09-01-10634
Guayaquil-Ecuador

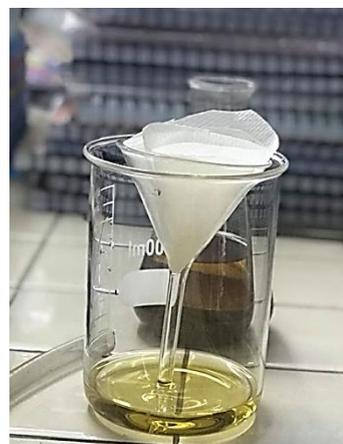
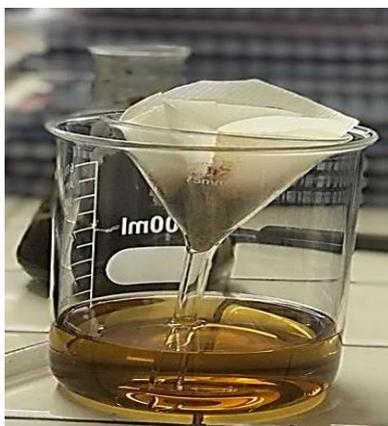
Anexos i. Certificación Taxonómica



Anexos ii. *Muestra Recolectada de Cassia grandis (Caña fístula)*



Anexos iii. Muestra triturada



Anexos iv. Extractos Etanólico y Acuoso de *Cassia grandis* L.f



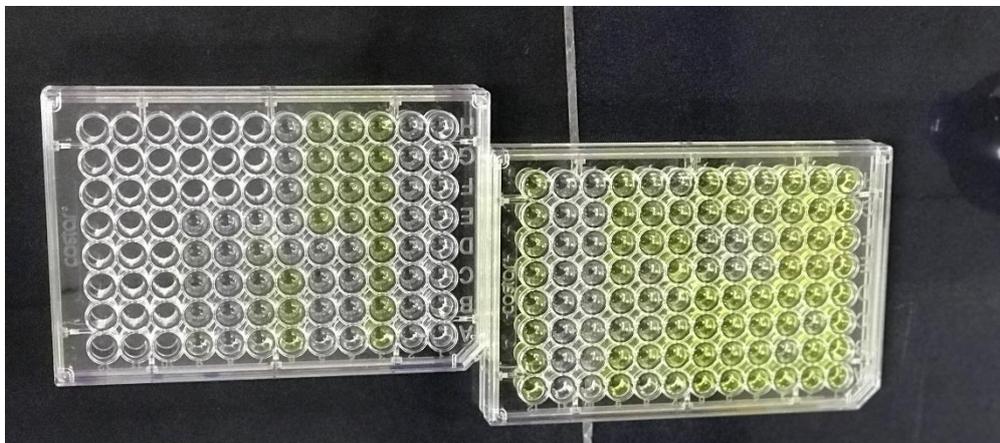
Anexos v. Sólidos Totales



Anexos vi. Kit para inhibición de enzima alfa-glucosidasa



Anexo vii. Equipo PCR



Anexo viii. Micro placas con 96 pocillos fondo redondo.

BIBLIOGRAFÍA

- Siddiquia IR, Singha M, Gupta D, Singha J. (1993). Anthraquinone-O-β-D-Glucosides from *Cassia grandis*, 83-90.
- Águila Y. (1999.). Caracterización de una materia prima con propiedades antianémicas, a partir de un producto natural.
- Aguilera, M., Reza, M., Chew, R., & Meza, V. (2011). *Propiedades funcionales de las antocianinas*. . Recuperado el 24 de febrero de 2020, de <https://doi.org/10.18633/bt.v13i2.81>
- AOAC. (1990). Official Methods of Analysis. USA: 15 ed.
- Autores. (21 de Septiembre de 2019).
- Autores. (2020). Resultados de Determinación de Sólidos Totales .
- Avellaneda, I. (2013). *Evaluación de la actividad inhibitoria de la α- glucosidasa in vitro por extractos vegetales*. . Recuperado el 25 de febrero de 2020, de <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/handle/11059/3825>
- Bautista Rodríguez LM, Zambrano Plata GE. (2015). *La calidad de vida percibida en pacientes diabéticos tipo 2*. Recuperado el 15 de enero de 2020, de Disponible en: <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/imagenydesarrollo/art>
- Bernal Rodríguez, C. (2012). *Contribución al estudio farmacotécnico del extracto estandarizado de frutos de *Physalis peruviana* con miras a la obtención de un producto fitoterapéutico*. . Recuperado el 24 de febrero de 2020, de <http://www.bdigital.unal.edu.co/9016/1/192546.2012.pdf>
- Cáceres A. (1996). Plantas de uso medicinal en Guatemala. . *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 115.
- Col., Witsberg. (1982). *Árboles del parque Deininger*.
- Coronado, M. V. (2015). Antioxidantes: Perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de nutrición*, 206 - 208.
- Correa QJE, Bernal MHY. (1990). Especies vegetales promisorias de los países del convenio Andrés Bello. Bogotá, Colombia, 485.
- Duarte, J., & Vizcaíno, F. (2015). Protección cardiovascular con flavonoides. *Ars Pharmaceutica*, 193-200.
- García de, Medina MG, Humbría J, Domínguez C, Baldizán A, Cova L. (2006). Composición proximal, niveles de metabolitos secundarios y valor nutritivo del follaje de algunos árboles forrajeros tropicales, 373-384.
- García, E., Fernández, I., & Fuentes, A. (2015). *Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu*. Valencia-España.

- Grandos,A. (2010). ESTUDIOS DE LOS MECANISMOS DE ACCIÓN MOLECULAR DE POLIFENOLES. En *MEMOIRA PARA OPTAR EL TITULO DE GRADO DE DOCTOR*. Madrid, España.
- Guija, E., Inocente, M., Ponce, J., & Zarzosa, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH). En *Horizonte Médico* (págs. 57-60).
- House P, Lagos-Wittc S. (1989.). Manual de 50 plantas medicinales de Honduras. Tegucigalpa, Honduras.
- J. Cambar Pablo, A. J. (12 de Abril de 2014). *Efectos cardiovasculares y gastrointestinales de Cassia grandis*. Obtenido de <http://www.bvs.hn/RMH/pdf/1996/pdf/Vol64-4-1996-3.pdf>
- Jorge & Troncoso. (24 de Junio de 2016). *Capacidad antioxidante del fruto de la Opuntia apurimacensis (ayrampo) y de la Opuntia ficus-indica (tuna)*. Recuperado el 30 de Octubre de 2019, de Anales De La Facultad De Medicina 77(2): <https://doi.org/10.15381/anales.v77i2.11812>
- Konya H., Katsuno T., Tsunoda T., Yano Y., Kamitani M., miuchi M. (2013). *Effects of combination therapy with mitiglinide and voglibose on postprandial plasma glucose in patients with type 2 diabetes mellitus*.
- Kusirisin W., Srichairatanakool S., Lertrakarnnon P., Lailerd N., Suttajit M., Jaikang C., Chaiyasut C. (2009). Actividad antioxidante, contenido polifenólico Actividad antioxidante, contenido polifenólico y efecto anti-glicación de algunas plantas medicinales tailandesas utilizadas tradicionalmente en pacientes diabeticos, 139-147.
- Lafourcade Prada A, R. A. (2014). State of the art in Cassia grandis L. f. (cañandonga). *Revista Cubana de Plantas Medicinales.*, 19.
- Lafourcade, P. A. (2018). Cassia grandis fruit extract reduces the blood glucose level in alloxaninduced diabetic rats. *Revista Cubana de Farmacia*. Recuperado el 5 de enero de 2020, de <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.04.059>
- Li Y., Wen S., Prasad KB, Peng G., Qian LG, Yamahara J. (2005). extracto de flor Roufogalis BD Punica granatum , un potente inhibidor de la α -glucosidasa, mejora la hiperglucemia posprandial en ratas grasas diabéticas Zucker. 239.
- Lizárraga, Hernández, González, & Heredia. (2012). Radicales libres en antioxidantes: importancia y métodos. *Corporación Universitaria Lasallista*, 129-160.
- Londoño, J. (2012). Radicales libres en Antioxidantes, métodos para medir su actividad. Colombia: Corporación Universitaria Lasallista.
- Makkar. (2003). Quantification of tannins in tree and shrub foliage, 102.

- Meena MK, Pal SC, Jain AK, Jain CP, Ashawat MS, Gaur K. (2010). Comparative study on physicochemical variation for different samples of *Cassia grandis* Linn, 261-267.
- Menéndez Torre E, Lafita Tejedor J, Artola Menéndez S, Núñez Cortes JM, Alonso García A, Puig Domingo M. (2011). *Recomendaciones para el tratamiento farmacológico de la hiperglucemia en la diabetes tipo 2*. Recuperado el 25 de enero de 2020, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0211-69952011000100004&lng=es.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant. En *Songklanakarinn Journal of Science and Technology* (págs. 211-219).
- Moreno, E. (2014). Contenido de Polifenoles. *Colombiana de Química*, 41-48. Obtenido de Contenido de Polifenoles.
- Morton, J. F. (27 de Septiembre de 1977). *Some folk-medicine plants of Central American Markets*. Recuperado el 12 de febrero de 2020, de <https://doi.org/10.3109/13880207709055170>
- Nelson CH. (2014). Plantas comunes de Honduras. . *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 264.
- ONU. (2013). *OBJETIVO DE DESARROLLO DEL MILENIO*. Obtenido de <https://onu.org.gt/objetivos-de-desarrollo/>
- Organizacion Mundial de la Salud (OMS). (2015). *Organizacion Mundial de la Salud*. Recuperado el 30 de Septiembre de 2019, de <https://www.who.int/dietphysicalactivity/fruit/es/index1.html>
- Parra, Col. y. (2000). *Estudio genotxico in vitro e in vivo del extracto fluido de Cassia grandis y el gel de Aloe vera*. Recuperado el 10 de Enero de 2020, de http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol5_3_00/pla05300.htm
- Pereira Despaigne OL. . (2015). *Diabesidad: Una epidemia del siglo XXI*. . Recuperado el 2 de febrero de 2020, de <http://scielo.sld.cu/pdf/san/v16n2/san18212.pdf>
- Pino JA. (2010). Volatile Compounds of *Cassia grandis* L. f. fruit from Cuba. . 599-601.
- Ramos, E. P. (2014). Determinación del contenido de hierro, saponinas y porfirinas en *Cassia grandis* L., procedente de Masaya, Chinandega y Jalapa . 46.
- Rodriguez J. (2017). Determinación de polifenoles, actividad antioxidante. En *Tesis para optar el Grado Académico en Farmacia y Bioquímica*. Lima, PERÚ.
- Romero, M. P. (2018). *CgTI, a novel thermostable Kunitz trypsin inhibitor purified from Cassia grandis seeds: Purification, characterization and termiticidal*

activity. Recuperado el 10 de febrero de 2020, de <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.110>

Schäfer, A., & Högger, P. (2007). Oligomeric procyanidins of French maritime pine bark extract (Pycnogenol) effectively inhibit alpha-glucosidase. *Diabetes Research and Clinical Practice*. (77)41-46.

Singleton V. L., Orthofer, R. y Lamuela-Raventos, R. M. . (1999). Análisis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. En *Methods in enzymology* (págs. 152-178).

Valencia, E. F. (26 de Diciembre de 2016). Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/29781/1/2.%201583-4794-2-PB.pdf>

Valencia, E., Ignacio, I., Sosa, E., Bartolomé, M., Martínez, H., & García, M. (2016). Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/29781/1/2.%201583-4794-2-PB.pdf>

Valverde, M. (30 de Junio de 2015). *Detección Alfa-glucosidasa*.

Van de Laar, F., Lucassen, P., Akkermans, R., Van de Lisdonk, E., Rutten, G & Van Weel, C. (2005). *Alpha-glucosidase inhibitors for type 2 diabetes mellitus*. Recuperado el 24 de febrero de 2020, de <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003639.pub2>

Vizoso PA, Ramos RA, García LA, Piloto FJ, Pavón GV. i. (2000). Estudio genotóxico in vitro e in vivo del extracto fluido de *Cassia grandis* L. y el gel de *Aloe vera* L. i, 91-96.

World Health Organization. (2016). *Global report on diabetes*. Geneva, Switzerland.

Zhang, B., Cai, J., Chang-Qing, D., Reeves, M. j., & He, F. (2015). A Review of Polyphenolics in Oak Woods. *International Journal of Molecular Sciences*, 6978-7014.