UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales

TRABAJO EXPERIMENTAL:

COMPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS NATURALES DE SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*) FRENTE A LA UÑA DE GATO (*Uncaria tomentosa*) PARA LA VALORACIÓN DE MAYOR CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Autora:

ANDREA SALOMÉ RAMÍREZ RAMÍREZ

Tutora:

BQF. SILVIA TORRES S., MGS.

CUENCA – ECUADOR

2019

CESIÓN DERECHOS DE AUTOR

Yo, Andrea Salomé Ramírez Ramírez con documento de identificación N° 1718547589, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana, la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajado de titulación: **COMPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS NATURALES DE SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*) FRENTE A LA UÑA DE GATO (*Uncaria tomentosa*) PARA LA VALORACIÓN DE MAYOR CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en condición de autora me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, julio de 2019

Andrea Salomé Ramírez Ramírez

C.I. 1718547589

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación**: COMPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS NATURALES DE SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*) FRENTE A LA UÑA DE GATO (*Uncaria tomentosa*) PARA LA VALORACIÓN DE MAYOR CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**, realizado por Andrea Salomé Ramírez Ramírez, obteniendo el *Trabajo Experimental* que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, julio de 2019

Bqf. Silvia Torres Segarra, Mgs.

C.I. 0103597225

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Andrea Salomé Ramírez Ramírez con documento de identificación N° 1718547589, autora del trabajo de titulación: **COMPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS NATURALES DE SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*) FRENTE A LA UÑA DE GATO (*Uncaria tomentosa*) PARA LA VALORACIÓN DE MAYOR CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**, certifico que el total contenido del *Trabajo Experimental* es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, julio de 2019

Andrea Salomé Ramírez Ramírez

C.I. 1718547589

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación va dedicado a Dios por ser la luz en mi vida tanto en el pasado, presente y futuro, así como en los proyectos que me he trazado y logrado gracias a él.

A mi Papi por apoyarme en cada circunstancia de la vida y ser el pilar fundamental de amor motivándome con sus palabras de guerra durante todos estos años.

A mi Mami por ser el complemento de mi Papi siendo el eje de nuestra familia, a su vez mi inspiración para vivir con amor y paciencia.

A mi hermana Iveth por ser mi amiga, mi confidente y apoyarme en mis estudios cuando más lo necesité.

AGRADECIMIENTOS

Primero quiero agradecer a Dios porque todo absolutamente todo, visible e invisible todo tuvo su comienzo en él. Por la salud, la fuerza e iluminación que me brindó durante estos años de mi carrera para lograr mi propósito.

Quiero agradecer a mis Padres por ser mi motivación y darme la fuerza necesaria para poder cumplir con los objetivos que me he trazado en mi vida universitaria, además ser ejemplo de perseverancia, amor y constancia.

En calidad de directora de tesis a la Bioquímica Farmacéutica Silvia Torres Segarra por guiarme en el camino correcto para cumplir mis expectativas brindándome su apoyo incondicional y su valiosa colaboración en el desarrollo de la misma.

A mis maestros: Dra. Inés Malo, Dra. Mancheno, Ing. Pablo Arévalo, Ing. Jhison Romero, Ing. Hernán Avilés por compartir sus conocimientos para formarme como profesional.

A mi maestro el Dr. Arévalo por compartir sus conocimientos a lo largo de mi vida universitaria

A mi hermano Luis Miguel que me apoyo con palabras de aliento para cumplir una sola promesa.

A la Dra. Mónica que me apoyó de forma desinteresada cada día con sus conocimientos.

A mi amiga Paulina por haberme apoyado en cada momento durante mi vida universitaria.

A mi amigo Jaime por brindarme su apoyo durante mi trayecto universitario, ambos dispuestos a crecer en el ámbito profesional.

A mi amigo Adriel por compartir gratos momentos; por los viajes, por las risas, por el llanto, que se volvieron experiencias y nos enseñaron a crecer con un solo objetivo llegar hasta el final que nos trazamos como universitarios-graduarnos- .

A mi amigo Paulo por brindarme hermosas palabras acerca del amor incondicional que tiene Dios puesto en los seres humanos y la fé que el hombre no debe perder en su diario vivir.

A mi amiga Micky y a mis amigos por brindarme momentos únicos que formaron parte de mi vida durante mi estancia en la Universidad, viviendo momentos inigualables y de mutuo aprendizaje.

ÍNDICE

DEDICATORIA V

AGRADECIMIENTOS VI

ÍNDICE DE FIGURAS XII

ÍNDICE DE TABLAS XIV

ÍNDICE DE ANEXOS XV

Resumen XVI

Abstract XVII

CAPÍTULO I 1

1.1. Introducción 1

1.2 Planteamiento del problema 2

1.3 Formulación de la pregunta de investigación 3

1.4 Justificación 4

1.5 Limitación del problema 5

1.6 Objetivos 5

1.6.1 Objetivo General 5

1.6.2 Objetivo Específico 5

1.7 Hipótesis 5

CAPÍTULO II 6

2.1 Estado Arte 6

2.2 Marco Teórico 8

2.3 Bases Teóricas 8

2.3.1 Sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) 9

2.3.1.1 Taxonomía 10

2.3.1.2 Composición Química 10

2.3.2 Uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) 11

2.3.2.1 Taxonomía 12

2.3.2.2 Composición Química 12

2.3.3 Antioxidantes 13

2.3.3.1 Clasificación 14

2.3.4 Principios Activos 15

2.3.4.1 Metabolitos Primarios 15

2.3.4.2 Metabolitos Secundarios 16

2.3.5 Taninos 16

2.3.6 Fenoles 17

2.3.7 Flavonoides 18

2.3.8 Saponinas 18

2.3.9 Extracción de principios activos 18

2.3.9.1 Maceración 19

2.3.9.2 Percolación 19

2.3.9.3 Decocción 19

2.3.9.4 Infusión 20

2.3.10 *Screening* fitoquímico 20

2.3.11 Método DPPH 20

CAPÍTULO III 21

3.1 Nivel de la Investigación 21

3.1.1 Diseño de Investigación 21

3.1.2 Población y muestra 21

3.1.3 Variables 21

3.1.4 Técnicas e Instrumentos de recolección de datos 22

3.1.5 Técnicas de procesamiento y análisis de datos 22

3.2 Procesos 22

Fase 1. Recolección de la muestra 22

Toma de la muestra vegetal 22

Toma de la muestra sangre de drago (*Croton lechleri Müll.* Arg) 22

Toma de la muestra uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) 22

Tratamiento de la muestra vegetal 23

Obtención de extractos etanólicos 24

Fase 2. Caracterización cualitativa 26

3.2.1 Caracterización de los extractos 26

3.3 *Screening* Fitoquímico 27

3.3.1 Prueba para Taninos 27

3.3.2 Prueba de Fenoles 27

3.3.3 Prueba para Flavonoides 28

3.3.4 Prueba para Saponinas 28

3.3.5 Prueba para Alcaloides 29

3.4 Valoración capacidad antioxidante a través del método DPPH 29

3.5 Método estadístico: Actividad Antioxidante 33

3.5.1 Actividad Antioxidante 33

3.5.2 Características de los tratamientos 33

3.6 Tipo de Análisis Estadístico 33

3.6.1 Diseño de Bloques Completamente al Azar 33

3.6.2 Análisis de Varianza 34

CAPÍTULO IV 36

4.1 Fase 1 Recolección de muestra vegetal 36

4.2 Fase 2 Caracterización 36

4.2.1 Caracterización cualitativa 36

4.3 Determinación de capacidad antioxidante 39

4.4 Valoración capacidad antioxidante a través del método DPPH 41

4.5 Comparación de la capacidad antioxidante entre los dos extractos 42

CAPÍTULO V 49

CONCLUSIONES 49

RECOMENDACIONES 51

BIBLIOGRAFÍA 52

ANEXOS 62

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 Sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) 9

Fig. 2 Uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) 11

Fig. 3 Clasificación de los antioxidantes 14

Fig. 4 Hidroxilo-OH- unido anillo aromático. 17

Fig. 5 Selección de sangre de drago como materia prima 23

Fig. 6 Selección de uña de gato como materia prima. 23

Fig. 7 Muestras pulverizadas de amabas muestras. 24

Fig. 8 Muestra de sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) 25

Fig. 9 Muestra de uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) 25

Fig. 10 Colocando etanol al 96% en la muestra 25

Fig. 11 Filtrado al vacío de los extractos etanólicos 25

Fig. 12 Rota vapor con extracto de sangre de drago 26

Fig. 13 Rota vapor con extracto de uña de gato 26

Fig. 14 *Screening* fitoquímico 26

Fig. 15 Prueba de Shapiro-Wilks 44

Fig. 16 Sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) prueba de Flavonoides 63

Fig. 17 Uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) prueba Flavonoides 63

Fig. 18 Prueba de Fenoles en sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) 64

Fig. 19 Prueba de Fenoles uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) 64

Fig. 20 Prueba de Saponinas en sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) 65

Fig. 21 Prueba de Saponinas en uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) 65

Fig. 22 Prueba de Taninos en sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) 66

Fig. 23 Prueba de Taninos en uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) 66

Fig. 24 Prueba de Alcaloides en ambas muestras 67

Fig. 25 Resumen de las pruebas del *screening* fitoquímico de ambas plantas. 67

Fig. 26 Reactivo DPPH aforado con etanol al 96% en 250 mL 68

Fig. 27 *Uncaria tomentosa* Wild.DC aforado con etanol al 96% 68

Fig. 28 Patrón de referencia vitamina C 69

Fig. 29 Frascos para las muestras preparadas 69

Fig. 30 Celda del Blanco 70

Fig. 31 Concentración vs %Inhibición del ácido ascórbico. 70

Fig. 32 Concentración vs %Inhibición de radicales libres. 71

Fig. 33 Concentración vs %Inhibición ..... …..71

Fig. 34 *Croton lechleri Müll*.Arg: Concentración vs %Inhibición en el programa de Infostat 72

Fig. 35 *Uncaria tomentosa* Wild.DC: Concentración vs %Inhibición en el programa de Infostat 72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Taxonomía de la planta sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg). 10

Tabla 2 Taxonomía de la planta uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) 12

Tabla 3 Taninos 27

Tabla 4 Fenoles 27

Tabla 5 Flavonoides 28

Tabla 6 Saponinas 28

Tabla 7 Alcaloides 29

Tabla 8 Soluciones del extracto 30

Tabla 9 Soluciones del extracto 32

Tabla 10 Características de los tratamientos para cada planta 33

Tabla 11 Datos obtenidos de muestras vegetales 34

Tabla 12 ANOVA de los extractos naturales 35

Tabla 13 Resultados *screening* fitoquímico en Taninos 36

Tabla 14 Resultados *screening* fitoquímico en Fenoles 37

Tabla 15 Resultados *screening* fitoquímico en Flavonoides 37

Tabla 16 Resultados *screening* fitoquímico en Saponinas 38

Tabla 17 Resultados *screening* fitoquímico en Alcaloides 38

Tabla 18 Resumen del *screening* 39

Tabla 19 Resultado de actividad radical del ácido ascórbico 40

Tabla 20 Resultado de la actividad radical de la sangre de drago 40

Tabla 21 Resultado de la actividad radical de la uña de gato 41

Tabla 22 Valores capacidad antioxidante de los extractos 42

Tabla 23 Relación de la concentración con % Inhibición 43

Tabla 25 Análisis de varianza por bloques de los dos extractos 45

Tabla 26 Resultados de los análisis de las varianza por bloques 46

Tabla 27 Prueba F para varianzas de dos muestras de 100 μg/mL 47

Tabla 28 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales 47

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexos 1 Lista de abreviaturas..... 62

Anexos 2 *Screening* o tamizaje fitoquímico..... 63

Anexos 3 Método DPPH 68

Anexos 4 Curva de calibración para ácido ascórbico..... 70

Anexos 5 Curva de calibración para sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg). 71

Anexos 6 Curva de calibración para uña de gato (*Uncaria Tomentosa* Wild.DC) 71

Anexos 7 Gráficos de Normalidad 72

Resumen

El presente trabajo de investigación tuvo como finalidad comparar la capacidad antioxidante de los extractos naturales de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) frente a la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) determinando su porcentaje de inhibición de radicales libres. Con respecto a lo antes mencionado el Ecuador posee una gran biodiversidad de plantas con alto contenido antioxidante siendo este un factor importante en cuanto a la prevención de radicales libres, que causan procesos de envejecimiento y otras enfermedades. El estudio se basó en la extracción de los principios activos de los extractos naturales de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) frente a la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) mediante maceración hidro alcohólica 3:1 al 96%. Posteriormente, la verificación de dichos principios activos a través de un *screening* fitoquímico determinando los principales grupos químicos presentes. Finalmente una comparación de los valores mediante el método de captura de radical DPPH en la cual se empleó concentraciones del 20 μl, 50 μl, 80 μl y 100 μl dando como resultado que la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) posee un valor de IC_{50} del 11.0404 μg/mL y la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) del 11.0405 μg/mL, de esa forma se determina que ambos extractos tienen actividad antioxidante. Con respecto al análisis comparativo del porcentaje de inhibición de radicales libres para ambas muestras se determina que la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) posee el 94.9460%, y la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) el 95.2129%, los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente por bloques completamente al azar en donde se acepta la hipótesis alternativa que señala que los extractos utilizados en la investigación poseen mayor capacidad antioxidante.

Palabras clave: capacidad antioxidante, *Croton lechleri Müll*.Arg, *Uncaria tomentosa* Wild.DC, radicales libres, DPPH.

Abstract

The present research work aims to compare the antioxidant capacity of the natural extracts of the drago blood (*Croton lechleri Müll*.Arg) against the cat's claw (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) determining its percentage of inhibition of free radicals. With regard to the aforementioned, Ecuador has a great biodiversity of plants with high antioxidant content, which is an important factor in the prevention of free radicals, that cause aging processes and other diseases. The study was based on the extraction of the active principles of the natural extracts of the drago blood (*Croton lechleri Müll*.Arg) against the cat's claw (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) by means of alcoholic hydro maceration 3:1 to 96%. Subsequently, the verification of these active principles through a phytochemical screening by identifying the main chemical groups present. Finally a comparison of the values by means of the DPPH radical capture method in which concentrations of 20 μl, 50 μl, 80 μl and 100 μl were used resulting in the drago blood (*Croton lechleri Müll*.Arg) having an IC_{50} value of 11.0404 μg/mL and cat´s claw (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) of 11.0405 μg/mL in this way it is determined that both extracts have antioxidant activity. With respect to the comparative analysis of the percentage of inhibition of free radicals for both samples it is determined that the drago blood (*Croton lechleri Müll*.Arg) owns 94.9460% and the cat´s claw (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) 95.2129%, the results obtained were statistically analyzed by completely randomized blocks where the alternative hypothesis is accepted that indicates that the extracts used in the research have greater antioxidant capacity.

Keywords: antioxidant capacity, *Croton lechleri Müll*.Arg, *Uncaria tomentosa* Wild.DC, free radicals, DPPH.

CAPÍTULO I

1.1. Introducción

Desde los mediados del siglo XX, la fitoquímica vegetal o también conocida como química vegetal ha sido una herramienta de interés para la obtención de extractos naturales de diferentes plantas, ya que muchas de ellas se las utiliza por sus efectos benéficos sobre la salud, estos principios activos procesados sirven como medicamentos, los cuales se basan en conceptos básicos de la polaridad de las moléculas. De acuerdo a los mismos, se han desarrollado diversas técnicas analíticas de separación, que facilitan la obtención de perfiles químicos detallados (Lunzhao, Danjuan, Xinhui, Jiahui, Yuping, Yizeng, Zhuchu & Zhiqiang, 2011). En el Ecuador alrededor del 80% de la población utiliza para su bienestar la medicina ancestral o tradicional que se transmite durante generaciones y por consiguiente los productos naturales derivados de diferentes plantas medicinales (Armijos & Patiño, 2010). La Organización Mundial de la Salud [OMS] definió como medicina tradicional el conjunto de conocimientos y de creencias basadas en experiencias indígenas de diferentes culturas, de tal forma que las plantas medicinales se utilicen con fines terapéuticos para la prevención, diagnóstico, mejora o tratamiento de enfermedades físicas o mentales (Barros, Jaramillo, San Martín & D'Armas, 2017). Por tanto las plantas contienen metabolitos secundarios como taninos, alcaloides, cumarinas, saponinas, flavonoides, fenoles que poseen características únicas, las cuales brindan actividad antioxidante total o capacidad antioxidante total a la medición analítica de concentraciones de radicales de diferente naturaleza, en un sistema oxidativo controlado. La presencia de los compuestos fenólicos en los alimentos de origen vegetal como son los flavonoides, se les otorga la capacidad antioxidante (Ciappini, Stoppani, Martinet & Alvarez, 2013).

Por lo tanto en esta investigación se ha visto la necesidad de estudiar la biodiversidad que existe en el país a través de pruebas de laboratorio mediante la comparación de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) y de la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) para determinar cuál de ellos posee mayor capacidad antioxidante, ya que ambas son plantas medicinales de la Amazonía ecuatoriana.

1.2 Planteamiento del problema

En los últimos años, a través de la existencia de la humanidad sobre la Tierra, una de las preocupaciones que tiene el ser humano es mantener la salud, ya que en la actualidad la aparición de nuevas enfermedades ha llevado al hombre a buscar nuevas soluciones que no perjudiquen al organismo, es por ello que se ha optado el uso de plantas mediante ensayos con las mismas, en donde varios científicos empezaron hace pocos años investigaciones detalladas de los principios activos de diversas plantas con propiedades medicinales o sus actividades biológicas que benefician al ser humano en su vida diaria en donde prevalezca lo natural y no lo sintético (Rivas, Oranday & Verde, 2016).

Dicho esto, el Ecuador posee una gran diversidad de flora que ha sido reconocida y estudiada a nivel mundial desde hace mucho tiempo, pero no fue sino hace ocho años que, con la publicación del monumental Catálogo de las Plantas Vasculares del Ecuador, se documentó la presencia de más de 16000 especies de plantas nombrando así al Ecuador un país mega diverso (Cruz & Tapia, 2018).

En este sentido, *Uncaria tomentosa* Wild.DC es una planta trepadora lignificada de América del Sur y Central, que bajo el nombre de "Vilcacora" o más conocida en el país como "Uña de gato" se ha vuelto muy popular en muchos países debido a que posee un sin número de propiedades como son: inmunoestimulantes, antiinflamatorias, y a su vez varios estudios han determinado que ha dicha planta se le otorga efectos anticancerígenos y antioxidantes (Bors, Michałowicz, Pilarski, Sicińska, Gulewicz & Bukowska, 2012).

Estudios recientes han informado que la suministración de pequeñas dosis de sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) tienen un efecto antioxidante sobre la mucosa gástrica, al observar menor lipoperoxidación lo que potencia su acción cito-protectora (Espín, 2017). Por lo tanto en los últimos años se ha observado un aumento considerable en la obtención de los extractos naturales de plantas, de igual forma el estudio de sus partes activas permite conocer aún más los recursos naturales con que se cuenta y así tener un mejor aprovechamiento; proporcionándoles un mayor valor en diferentes áreas industriales.

Hoy en día el interés de los antioxidantes naturales es más fuerte que los sintéticos y una de las razones más fuertes se debe a las creencias que tiene el ser humano al consumir productos de origen natural, además que los antioxidantes por último mencionados no ofrecen la seguridad adecuada para que sean comercialmente aceptados.

Como sustancias de uso alternativo en la medicina ancestral se encuentra el uso de antioxidantes que son de procedencia natural, en este trabajo experimental se realizará una comparación de los extractos de la plantas amazónicas sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) y de la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC), que empíricamente las comunidades indígenas ecuatorianas han utilizado de generación en generación.

1.3 Formulación de la pregunta de investigación

¿Cuál de los dos extractos naturales de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) y de la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) contiene mayor capacidad antioxidante?

1.4 Justificación

Desde hace décadas se han llevado a cabo considerables investigaciones de plantas medicinales, así como en la actualidad varios estudios determinan que las especies vegetales son fuente potencial de diversas sustancias con propiedades biológicas. De modo que uno de los constituyentes principales de las plantas son los antioxidantes, los cuales se definen como elementos o sustancias en ciertas cantidades dependiendo de cada especie que retarda la oxidación de otras moléculas. Así mismo, determinados alimentos contienen antioxidantes que actúan protegiendo al organismo de la acción de los radicales libres los mismos que ocasionan el proceso de envejecimiento, de igual manera el estrés oxidativo está relacionado con el origen y evolución de graves enfermedades como el cáncer entre otras (Benítez, Jaramillo, Rojas de Astudillo, Matute & D'Armas, 2018).

Varias investigaciones se enfocan en la utilización de extractos naturales en las que destacan principalmente los antioxidantes, por lo que un estudio realizado en la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) evaluó la actividad antioxidante, resultando la fracción etanólica con mayor actividad antioxidante, a su vez cuenta con propiedades antimicrobianas y el látex de la planta posee mayor contenido de polifenoles totales (Salguero, 2016).

Por otra parte las características que se le atribuyen a la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC), como inmunoestimulantes y antioxidantes están probablemente relacionadas con la alta concentración de flavonoides que intervienen contra las especies reactivas del oxígeno, reduciendo el estrés oxidativo en el proceso inflamatorio (Fernandes & Oliveira da Silva, 2011).

En ese sentido, se ejecutó el estudio, pretendiendo valorar la biodiversidad del Ecuador mediante la comparación de los extractos naturales con el fin de aportar cuál de los dos extractos posee mayor capacidad antioxidante para usos diversos.

1.5 Limitación del problema

La presente investigación se realiza en los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca, durante un periodo de seis meses por lo cual las limitaciones son: espacio físico, tiempo y reactivos necesarios para llevar a cabo la investigación.

1.6 Objetivos

1.6.1 Objetivo General

Comparar los extractos naturales de sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) frente a la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) para la valoración de mayor capacidad antioxidante.

1.6.2 Objetivo Específico

- Extraer los principios activos de los extractos naturales de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) y uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) por medio de maceración hidro-alcohólica para valorar sus componentes.
- Verificar los principios activos de los extractos naturales de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) y de la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC*)* mediante un *screening* fitoquímico determinando los principales grupos químicos presentes.
- Comparar los valores de la capacidad antioxidante mediante un análisis estadístico estableciendo cuál de los dos extractos tiene mayor capacidad antioxidante.

1.7 Hipótesis

Si uno de los extractos obtenidos de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) y de la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) tienen mayor capacidad antioxidante entonces se podrían considerar una alternativa natural.

CAPÍTULO II

2.1 Estado Arte

Los estudios realizados de la capacidad antioxidante con respecto a los extractos de sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) y de uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) encontramos:

Según lo indica Altamirano (2015), evaluaron la capacidad antioxidante de cuatro especies de género *Croton* en donde cada una de las especies a diferentes concentraciones se usaron en el espectrómetro con el reactivo 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) dichas concentraciones del extracto de cada planta son del: 50 μg/mL, 100 μg/mL, 150 μg/mL, 200 μg/mL, en la investigación realizada usan como patrón de referencia al ácido ascórbico conocido como vitamina C en las mismas concentraciones dando como resultado que el género *Croton* posee mayor capacidad antioxidante frente al mismo. Además, para determinar con mayor precisión que especie contiene más capacidad antioxidante, se realizó un análisis estadístico con la ayuda del método de Diseño de Bloques Completamente al Azar-ADEVA- y a su vez el método Análisis de dos series de datos, concluyendo que en el caso del *Croton lechleri Müll.*Arg posee mayor capacidad antioxidante con un porcentaje cerca del 98.65% a 99.55% en la concentración de 200 μg/mL.

Otros estudios en los últimos años que han llevado a cabo los investigadores por sus propiedades antiinflamatorias, antigenotóxicas son los flavonoides, ya que estos metabolitos secundarios brindan protección frente a diversos procesos de daño oxidativo, por tanto se les otorga una gran capacidad antioxidante. En la actualidad aportan una cierta cantidad dentro del valor nutricional al ser humano, de cierta forma volviéndose productos naturales novedosos que busca la sociedad dentro del área alimenticia, en esa misma línea tenemos a la industria farmacéutica donde el uso de plantas gracias a sus propiedades logra que los fitoquímicos sean productos viables al ser humano sin el uso de sintéticos que puedan ocasionar daños a la salud (Pérez, 2016).

Por otro lado en esta investigación se determina el contenido de ácido ascórbico, flavonoides y compuestos fenólicos totales; así como la evaluación de la actividad antioxidante de los extractos hidro-alcohólicos de seis plantas peruanas entre ellas la *Uncaria tomentosa* Wild.DC, dando como resultado una gran cantidad de capacidad antioxidante de la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) los cuales concluyeron que el extracto hidro-alcohólico al 50% es más activo que el extracto acuoso en el test de inhibición de radicales superóxido y peroxilo, así como en su capacidad antioxidante total (Doroteo, Díaz, Terry & Rojas, 2013).

Muchos estudios para medir la capacidad antioxidante utilizan el método DPPH, el mismo que fue desarrollado por BRAND-WILLAMS, en donde se utilizó el radical del DPPH que se torna color violeta que tienden a teñirse generalmente a color amarillo durante el proceso. No obstante, varios estudios corroboran la eficacia de este método en cuanto a la medición de la capacidad antioxidante de los extractos de diferentes plantas de interés, debido a que es más rápido y económico frente a otros métodos (Aparcana & Villarreal, 2014).

Finalmente el método DPPH es una técnica comúnmente aceptada para la detección de compuestos anti radicales, uno de los estudios que respalda a este método es la producción de metabolitos secundarios de cultivos celulares en suspensión de *Ocimum sanctum L,* de Giraldo (2015), donde determina que el radical DPPH se torna amarillo en la presencia de un barrido de radicales libres, por tanto en dicho estudio concluye que los extractos con alto potencial de eliminación DPPH pueden denominarse antioxidantes de ruptura gracias al mayor contenido de compuestos fenólicos ya que disminuyen grupos alcoxilo o peroxilo.

2.2 Marco Teórico

2.3 Bases Teóricas

A través de la historia el hombre se ha visto involucrado en diversos medios según avanza el tiempo, por esta razón ha empleado una serie de fuentes naturales, no sólo para su alimentación sino también para aliviar una serie de dolencias que afecta al organismo en su diario vivir (Suárez, Castro & Ale, 2014).

Los antioxidantes naturales son sistemas biológicos que poseen diferentes mecanismos para afrontar los diversos procesos de oxidación ocasionados por el estrés oxidativo los cuales proceden de su interacción con el medio. Por este motivo los mecanismos de los antioxidantes tienden a clasificarse en enzimáticos y no enzimáticos, los cuales depende del tipo de interacción que pueden llevar a cabo.

En el caso de los antioxidantes enzimáticos como ejemplo tenemos: superóxido dismutasa, catalasa, tioredoxina- reductasas, por el contrario tenemos a los antioxidantes no enzimáticos, son moléculas de diversos grupos químicos que actúan retardando y/o inhibiendo la formación o propagación de especies radicales, que ocasionan daño a nivel celular entre los grupos más comunes se pueden mencionar: polifenoles, flavonoides, tocoferoles y tocotrienoles (Decker, Elias & McClements, 2010).

Por consiguiente los antioxidantes tienen como finalidad primero inhibir radicales libres, segundo eliminar las enzimas que generan los radicales libres y por último reparar los daños oxidativos generados en el organismo (Choque, 2013).

2.3.1 Sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg)

Fig. 1 Sangre de drago *(Croton lechleri Müll.*Arg*)*

Fuente: Revista ebm (Lara, 2010). https://bit.ly/2GEgi04

Las especies vegetales conocidas como sangre de drago se encuentran en las zonas tropicales y subtropicales desde el sur de México hasta América del Sur. De igual manera la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) es nativo de Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú y Brasil, por tanto en el Ecuador se encuentra en la Amazonía, este látex de color rojo que produce la planta tiende a ser un buen sustento económico, es decir; que algunos países han optado por cultivarla para la producción del mismo he aquí de porque se ha vuelto tan popular hoy en día con fines comerciales, se dice que la sinonimia popular es muy amplia: palo de grado, sangre de palo, huampo, topa roja, sangre del árbol, sangrado,

palo sangriento, etc., dependiendo de la zona geográfica y de los grupos étnicos varia el nombre de la planta (Intriago, 2014).

2.3.1.1 Taxonomía

Tabla 1 Taxonomía de la planta sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg). Fuente: (Allaica, 2015)

Reino: Plantae
División: Angiospermas
Clase: Dicotiledóneas
Orden: Geraniales
Familia: Euphorbiaceae
Género: Croton
Especie: lechleri

2.3.1.2 Composición Química

La composición de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) es compleja y variada, siendo así que en su corteza posee el látex, en el cual se determinó que contenía una variedad de metabolitos secundarios como son los esteroides, cumarinas, alcaloides de tipo isoquinoléico y fenantrénico o denominado taspina, flavonoides, taninos en un 54%, antocianinas, finalmente tenemos a las saponinas con una baja concentración (Tupiza, 2016).

Sin embargo los componentes mayoritarios en un noventa por ciento son: derivados poli fenólicos, abundantes derivados gálicos y catéquicos, diversas proantocianidósidos como: beta-1 y beta-4, además contiene alcaloides: en donde destaca la taspina, lignanos dihidrobenzofuranos: dimetilcedrusina, metilcedrusina, a su vez también contiene diterpenoides tipo clerodano: korberinas A y B, b-sistosterol (Pérez, 2017).

2.3.2 Uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC)

Fig. 2 Uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC)

Fuente: (Fitoterapicos, 2014). https://bit.ly/2RPCV63

En el Ecuador la *Uncaria tomentosa* Wild.DC es conocida como uña de gato la cual ha sido utilizado durante siglos por las etnias indígenas de la selva tropical del Amazonas, por tanto es una planta tipo escaladores arbustos que pueden alcanzar hasta 30 m de altura, con sus espinas, presenta un tronco leñoso de color marrón-café en donde se encuentran las espinas ganchudas en forma de uña de gato por el cual deriva su nombre común. También sus hojas son oblongas de color verde amarillento opaco en el haz y verde en el envés (Fernandes & Oliveira da Silva, 2011).

De acuerdo con varios estudios farmacológicos la uña de gato (*Uncaria* tomentosa Wild.DC) tiene efectos antiinflamatorios, antimutagénicos y actividad antioxidante de esa forma a esta especie se le atribuye diversas propiedades medicinales (Quintela & Lock de Ugaz, 2014).

2.3.2.1 Taxonomía

Tabla 2 Taxonomía de la planta uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC). Fuente: Autora

Reino: Vegetal
División: Antófitos
Clase: Dicotiledóneas
Orden: Rubiales
Familia: Rubiaceae
Género: Uncaria
Especie: tomentosa.

2.3.2.2 Composición Química

Esta planta ha revelado que contiene alcaloides, isoteropodina uncarina E, pteropodina uncarina C, isomitrafilina ajmalicina-oxindol A, mitrafilina, isorinchofilina, rinchofilina, uncarina F, especiofilina uncarina D. Así también encontramos al ácido quinóvico, glicósidos, flavonoides, taninos, vitaminas, minerales como el calcio, fósforo, magnesio, potasio, sodio y manganeso (Cervantes, 2016).

2.3.3 Antioxidantes

En los seres humanos, el estrés oxidativo está relacionado con un sin número de enfermedades en la mayoría de los casos crónicas como el cáncer y diversas enfermedades cardiovasculares, entonces cuando el organismo contiene ciertas cantidades de antioxidantes se dice que favorece al organismo ya que protege al mismo contra la oxidación celular ya que intervienen en los procesos de enfermedades graves ya antes mencionadas. De igual modo los antioxidantes pueden clasificarse en dos tipos de sustancias: nutritivas y no nutritivas, las mismas neutralizan la oxidación de los radicales libres por tanto los efectos ya no serán tan dañinos como en su primera instancia. Un ejemplo claro es la vitamina C ya que este potencial antioxidante interacciona con especies reactivas de oxígeno (Jáuregui *et* al., 2014).

De la misma forma tenemos que aquellas sustancias en bajas concentraciones respecto a la molécula oxidable previene la oxidación es un concepto perteneciente a los antioxidantes, entonces el organismo de todos los seres vivos cumplen con funciones y procesos que utilizan oxígeno para generación de energía, que como resultado de este proceso es la liberación de radicales libres lo cual no es beneficioso para el mismo a menos que exista mecanismo de defensa que retrasen o inhiban este proceso. Por ello, se considera que los antioxidantes son un mecanismo defensa contra los radicales libres ya que posee una afinidad mayor para interactuar que cualquier otra molécula. Finalmente, se puede considerar un concepto de antioxidante, a toda sustancia que hallándose en bajas concentraciones respecto a las de una molécula oxidable o biomolécula, retarda o previene la oxidación de este sustrato (Castaño & Hernández, 2018).

2.3.3.1 Clasificación

Los antioxidantes se clasifican en endógenos y exógenos, entre los primeros tenemos a los que son elaborados por la propia célula, y como segundo tenemos a los que son más conocidos ya que estos ingresan en el organismo a través de la dieta o de suplementos con formulaciones antioxidantes (Vallejo, Rojas & Torres, 2017).

Exógenos	Endógenos	Cofactores
Vitamina E	Glutatión	Cobre
Vitamina C	Coenzima Q	Zinc
Beta caroteno	Ácido tióctico	Manganeso
Flavonoides	Enzimas: Superóxidodismu- tasa(SOD) Catalasa Glutatión peroxi- dasa	Hierro
Licopeno		Selenio

Fig. 3 Clasificación de los antioxidantes

Fuente: Revista SANED https://bit.ly/2DikQT6

2.3.4 Principios Activos

Son aquellas sustancias que tienen actividad farmacológica o conocida como actividad biológica, es decir; que una planta contiene principios activos que la vuelven característica de dicha especie y es por esa razón que las plantas se convierten más interesantes para los investigadores. Entre los cuales se generan efectos benéficos o adversos de la droga sobre la materia viva, en dichas interacciones se dice que una de ellas puede servir para modular la acción de la otra. Por lo que dichos principios activos pueden ayudar en las diversas dolencias que en la actualidad consumen al ser humano por esa razón es que las plantas son estudiadas y aplicadas en industrias alimenticia, farmacológica entre otras (Estrada, 2010).

2.3.4.1 Metabolitos Primarios

Se define como metabolismo al conjunto de reacciones químicas que tienen una determinada acción en un organismo, al hablar de reacciones químicas decimos que es todo proceso donde se obtiene un producto a partir de un proceso termodinámico de dos sustancias. Además el organismo necesita de ciertos elementos como el carbono, nitrógeno entre otras para su funcionamiento correcto (Valencia, 2013).

En el caso de los aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos, presentes en todas las plantas colaboran en ciertas funciones necesarias para que un organismo sea estable; he aquí lo que los vuelve atractivos para la realización de nuevos estudios, por esa razón se los denominan metabolitos primarios (Valares, 2011).

2.3.4.2 Metabolitos Secundarios

Así mismo en la naturaleza encontramos los metabolitos secundarios los cuales se describen como sustancias orgánicas que se encuentran en las plantas. A diferencia de los metabolitos primarios en donde desempeñan un papel fundamental en los diversos procesos del organismo vegetal, estos metabolitos no ejercen una función específica en los procesos de respiración, asimilación y transporte (García, Aguilar, Gutiérrez, Rodríguez, Morales, Guerrero, Madrigal & Sánchez, 2016).

No obstante estos metabolitos son de gran relevancia científica ya que son productos naturales de los mismos los cuales se utilizan para diferentes aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros, que son necesarias en una sociedad (Canepa, 2018).

2.3.5 Taninos

Una de las características que han determinado varios estudios de los taninos es su sabor amargo y astringente que resulta de una mezcla variable y compleja de compuestos químicos, pero en general, son esteres de un azúcar con un número variable de ácidos fenólicos un ejemplo claro de tanino más conocido es el pentagaloilglucosa, a estas mezclas de ésteres fenólicos se les conoce como ácido tánico. Por tanto son sustancias con estructura polifenólicas solubles en agua, alcohol, acetona e insolubles en éter, benceno, a su vez cuenta con proteínas que permiten la flexibilidad y resistencia al momento de curtir la piel de la piel de diferentes animales. La acción farmacológica que poseen es de: cicatrizante, antimicrobiano, antídoto ya que actúa como inhibidor enzimático lo que le permite ejercer las diversas acciones (Guerrero, 2014).

2.3.6 Fenoles

Son aquellos compuestos que poseen al menos un grupo fenol –hidroxibenceno-, es decir, un benceno como sustituyente en un grupo hidroxilo los cuales se forman a partir de la adición de un anillo aromático. También se les denomina como fenoles, polifenoles o compuestos fenólicos, cualquiera de estos nombres comunes hacen referencia a este grupo fenólico. Aproximadamente existe más de 1000 compuestos fenólicos con diversas propiedades como de protección, repeler-herbívoros-, entre otros, por lo cual varias investigaciones han determinado estudios acerca de más información específica de este grupo para ampliar conocimientos y con ello la gran relevancia de los mismos en la vida humana (Fuente, 2018).

Nuestro organismo depende de diferentes compuestos, los cuales ayudan al ser humano a llevar a cabo actividades diarias, ya que aportan ricos nutrientes para mantener un cuerpo estable (Reyes, Galicia & Carrillo, 2011). Dicho de otra manera, estos compuestos tratan de prevenir ciertas enfermedades a nivel: cardiovascular, hipertensión, cáncer, diabetes. En su mayoría, los fenoles se encuentran en la naturaleza en forma de glucósido, siendo soluble en agua y en solventes orgánicos (Rojas, Jaramillo & Lemus, 2015).

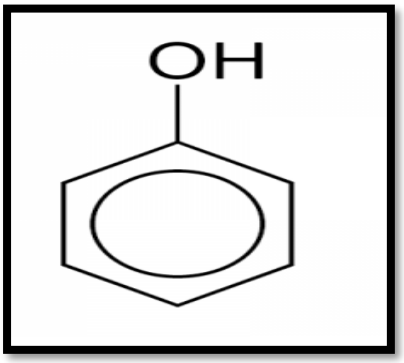


Fig. 4 Hidroxilo-OH- unido anillo aromático.

Fuente: https://bit.ly/2T5zGZ4.

2.3.7 Flavonoides

Son compuestos por lo general de color amarillo responsables del pigmento en las flores, frutos y hojas, en su gran mayoría biosintetizan las plantas terrestres así como también en algunas algas carofitas, conociéndose además, en la mayoría de las plantas la ruta biosintética central, esto determina la diferente composición y la concentración de flavonoides en la mayoría de especies así como en respuesta al medioambiente. Puesto que posee en cada anillo bencénico una cadena propánica que a su vez está unida a otro anillo bencénico -C6-C3-C6-. Entre las propiedades que se le atribuyen son: antibacterianas, antiinflamatorias y antiespasmódicas (Pérez, 2016).

2.3.8 Saponinas

Estos metabolitos se caracterizan por tener acciones amplias a nivel biológico y farmacológico, entre los cuales encontramos propiedades como insecticida, anti-protozoos, antiinflamatorio, leishmanicida, anti-trichomonas, broncolítico, hipo-colesterolémico, así como su actividad citotóxica frente a varias neoplasias. Por lo general, se encuentran en la parte subterránea de las plantas y lo más característico de este grupo es tras agitar presenta espuma. De tal manera, se definen como glicósidos hidrosolubles, con propiedades tensoactivas y hemolíticas, ambas atribuidas a sus características estructurales de naturaleza anfifílica. (Mena, Tamargo, Salas, Plaza, Blanco, Otero & Sierra, 2015).

2.3.9 Extracción de principios activos

Para la extracción de principios activos podemos encontrar los siguientes métodos:

2.3.9.1 Maceración

Es considerado el método más simple de extracción, en donde existe una relación solvente-planta, por lo general esta relación es 2:1 mezclando continuamente en diversas direcciones, de tal forma que sus principios activos se disuelven hasta obtener un equilibrio adecuado con el contenido celular. El conjunto de solvente-droga se debe proteger de la radiación solar para evitar reacciones, entonces el extracto se coloca en frascos ámbar, a su vez debe mantenerse en agitación, adicionalmente el tiempo en que permanece la muestra es alrededor de cinco días a diez días. Según las diferentes farmacopeas este método trata de que las muestras obtenidas no lleguen al agotamiento al momento de su extracción (Carrión & García, 2010).

2.3.9.2 Percolación

Existen una variedad de métodos para la extracción de especies vegetales, pero para la Farmacopea Americana existe un método oficial conocido como percolación, dicho esto, es un método que se basa a partir de las muestras vegetales interactúen con solventes generalmente presentan un estado alcohólico o hidro-alcohólico. De tal manera que los solventes penetran la masa pulverizada de la especie vegetal, alcanzando altas concentraciones, por lo que la droga bañada en dichos solventes cede todos sus componentes solubles de forma progresiva (Barrera, 2015).

2.3.9.3 Decocción

Es un procedimiento sencillo y económico, en el cual la planta de interés reposa aproximadamente por un día, de tal manera que la materia prima ya sean hojas, tallos pueda ser fresca o seca, las mismas se colocan en un recipiente en donde hierven a fuego lento por 20 a 30 minutos y se deja enfriar el líquido en el mismo recipiente, tratando de que el vapor se mantenga dentro del mismo (Olivo, 2016).

2.3.9.4 Infusión

Es un procedimiento donde no se modifica drásticamente la estructura química de la planta, es decir, que mantiene sus propiedades de la mejor manera al momento de su extracción. La infusión es una forma de obtener extractos de la forma más natura ideal de las partes delicadas de las plantas: hojas, flores, tallos tiernos (Gonzalez, 2016).

2.3.10 *Screening* fitoquímico

También conocido como tamizaje fitoquímico consiste en la extracción de una planta por medio de solventes apropiados, es decir, permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes. Por tal razón, es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, y a partir de allí, orienta a la extracción de diferentes extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés (Palacios, 2013).

2.3.11 Método DPPH

Múltiples estudios recomiendan que para determinar la capacidad antioxidante se acude a varios métodos, siendo uno de ellos el método DPPH, el cual en presencia de un antioxidante captura el material radicalario, estudiando los comportamientos de dicho radical como: la medición del potencial de inactivación en medio acuoso (Jiménez, Sánchez & Martínez, 2012).

El método se basa en una solución de DPPH aproximadamente de 990 mL, la cual se deja reposar alrededor de 30 minutos con la reacción de 10 mL de la muestra de interés a temperatura ambiente, posteriormente la determinación de la disminución de la absorbancia a 517 nm relacionada con una reducción de la concentración de DPPH (Boom, Orozco, Alean & Rojano, 2018).

CAPÍTULO III

3.1 Nivel de la Investigación

En la presente investigación de acuerdo con el alcance, es un nivel descriptivo, debido a que no se mueve factores internos dentro de las variables, la cual se realizará a través de pruebas de laboratorio para la determinación de mayor capacidad antioxidante.

3.1.1 Diseño de Investigación

Se desarrollará una investigación con un diseño de investigación experimental en donde se tomará las variables dependiente, independiente e intermitente para lograr un control completo durante el desarrollo de la investigación.

3.1.2 Población y muestra

Se obtendrá materia prima a partir del mercado "Arenal" que se encuentra en el sur de la ciudad de Cuenca caracterizado por tener un sin número de especies vegetales de gran interés. Se realizará una muestra por cada una de las plantas, a partir de una muestra madre de 200 g de tal forma que la materia prima tiene que estar en las mejores condiciones para su debido proceso.

3.1.3 Variables

En el presente trabajo investigativo se identificaron las siguientes variables:

- **Independiente**: los metabolitos secundarios de interés en la muestra vegetal.
- **Dependiente**: actividad antioxidante que posee la muestra.
- **Intervinientes**: temperatura, infraestructura, equipos, tiempo.
- **Extraña:** condiciones ambientales.

3.1.4 Técnicas e Instrumentos de recolección de datos

Dentro de las técnicas de recolección de datos están el análisis documental, de contendido y diagramas de flujo, en caso de la metodología emplear instrumentos como: artículos científicos de bases digitales como de revistas, sección de libros, documentos de tesis.

3.1.5 Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Para las técnicas de procesamiento y análisis de datos se van a aplicar análisis estadístico para comparar la capacidad antioxidante de los extractos naturales mediante diseño completamente al azar para determinar cuál de estos dos extractos posee un mejor potencial antioxidante.

3.2 Procesos

Fase 1. Recolección de la muestra

En esta etapa se da paso al cumplimiento del primer objetivo con la diferente especificación de los métodos y procesos realizados durante nuestra investigación.

Toma de la muestra vegetal

Toma de la muestra sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg)

Se toma la muestra a partir del tallo de la sangre de drago aproximadamente 200 g, ya que varios autores como Espín (2017) y Mendive (2013), estiman que la planta posee gran cantidad de antioxidantes.

Toma de la muestra uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC)

De igual forma se realiza una toma de muestra de 200 g de uña de gato, algunos autores como Aguilar, Flores (2018) y Sandoval (2012), han descrito que posee gran capacidad antioxidante.

Tratamiento de la muestra vegetal

Al material vegetal adquirido de ambas muestras se escoge el de mejor aspecto, si es necesario dejar secar en temperatura ambiente donde no lleguen directamente los rayos del sol. Posteriormente remover con frecuencia a las muestra para acelerar el secado. Una vez seco se procede a moler la muestra la cual es conservada en bolsas plásticas etiquetadas previamente.

Fig. 5 Selección de sangre de drago como materia prima.

Fuente: Autora.

Fig. 6 Selección de uña de gato como materia prima.

Fuente: Autora.

Fig. 7 Muestras pulverizadas de amabas muestras.

Fuente: Autora.

Obtención de extractos etanólicos

Para la obtención de los extractos etanólicos se procede a pesar por separado las muestras aproximadamente 200 g de cada una para colocarlas en frascos ámbar, adicionando 600 mL de etanol al 96%, relación 3:1 hasta cubrir las muestras vegetales. Agitar ocasionalmente los frascos durante los catorce días de maceración, los frascos ámbar permanecen en un lugar oscuro y envueltos con papel aluminio si es necesario. Una vez cumplidos los catorce días se procede a colar cada uno de los extractos etanólicos a través de un embudo büchner con papel filtro el cual está colocado en un matraz de filtración conectado a la bomba de vacío -Figura 10-, finalmente los extractos se coloca en el rota vapor a 75℃ -Figura11-.

Fig. 8 Muestra de sangre de drago *(Croton lechleri Müll.*Arg*).*

Fuente: Autora.

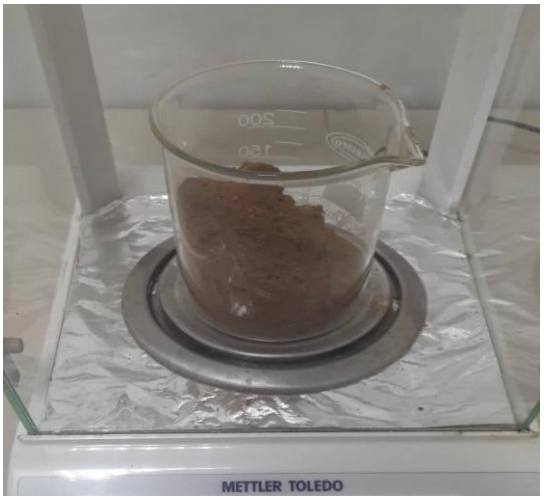


Fig. 9 Muestra de uña de gato *(Uncaria tomentosa* Wild.DC*).*

Fuente: Autora.

Fig. 10 Colocando etanol al 96% en la muestra.

Fuente: Autora.

Fig. 11 Filtrado al vacío de los extractos etanólicos.

Fuente: Autora.

Fig. 12 Rota vapor con extracto de sangre de drago.

Fuente: Autora.

Fig. 13 Rota vapor con extracto de uña de gato.

Fuente: Autora.

Fase 2. Caracterización cualitativa

En esta etapa se cumple con los procesos de *screening* fitoquímico o tamizaje fitoquímico de los extractos etanólicos obtenidos a través del rotavapor.

3.2.1 Caracterización de los extractos

A continuación se procede a realizar el *screening* fitoquímico de los extractos etanólicos a través de diferentes pruebas.

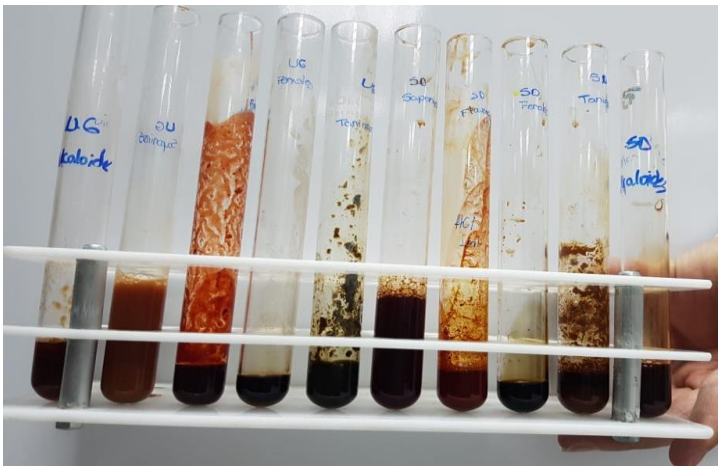


Fig. 14 *Screening* fitoquímico.

Fuente: Autora

3.3 *Screening* Fitoquímico

Para las diferentes pruebas se procede a realizar lo descrito a continuación:

3.3.1 Prueba para Taninos

Tabla 3 Taninos. Fuente: Autora

Reactivo	Procedimiento	Resultado
Con cloruro férrico	Se coloca 1 mL del extracto tanto de sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) como de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) en tubos de ensayo por separado adicionalmente 3 gotas de cloruro férrico al 5%.	Coloración: Verde –marrón intensa: taninos pirocatecólicos. Azul: taninos pirogalotánicos.

3.3.2 Prueba de Fenoles

Tabla 4 Fenoles. Fuente: Autora

Reactivo	Procedimiento	Resultado
Con cloruro férrico	Se coloca 1 mL del extracto tanto de sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) y como de uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) en tubos de ensayo por separado más gotas de solución de cloruro férrico al 1%.	Prueba positiva si se torna verde, azul, violeta o negro.

3.3.3 Prueba para Flavonoides

Tabla 5 Flavonoides. Fuente: Autora

Reactivo	Procedimiento	Resultados
Ensayo de Shidona	Se coloca 1 mL del extracto tanto de sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) y de uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) en tubos por separado, en cada uno se diluye 1 mL de ácido clorhídrico concentrado más un pedazo de cinta de magnesio, esperar aproximadamente 5 minutos.	Prueba positiva si se torna rojiza, amarilla, naranja.

3.3.4 Prueba para Saponinas

Tabla 6 Saponinas. Fuente: Autora

Reactivo	Procedimiento	Resultado
Prueba de espuma	Se coloca 1 mL del extracto tanto de sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) y de uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) en tubos por separado y se diluye en cada uno 5 mL de agua destilada la misma se agita fuertemente.	La prueba es positiva cuando el líquido presenta más de dos mm de altura y es constante durante más de dos minutos.

3.3.5 Prueba para Alcaloides

Tabla 7 Alcaloides. Fuente: Autora

Reactivo	Procedimiento	Resultados
Ensayo de Dragendorff	Se coloca 1 mL del extracto tanto de sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) y de uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) en tubos por separado más ácido clorhídrico al 1% se evapora en baño maría y se agrega 3 gotas del reactivo Dragendorff.	Es positivo cuando se presenta un precipitado o se torna a un color naranja

3.4 Valoración capacidad antioxidante a través del método DPPH

Se analizó la capacidad antioxidante a través del método DPPH, el cual se fundamenta en que el donador de hidrógeno tiende a ser el antioxidante de tal manera que al aceptar el hidrógeno da como resultado que el antioxidante es proporcional a la desaparición de DPPH. Este radical presenta una absorción de 517 nm y cuando ya se forma el DPPH presenta un color amarillento por tanto la pérdida de absorbancia puede ser evaluada fácilmente (Díaz & Moncada, 2017).

Preparación del reactivo para la curva de Calibración

Se prepara una solución DPPH en etanol al 96%, por tanto se pesa 49 mg de DPPH en la balanza analítica marca: Mettler Toledo y se aforó a 250 mL, colocamos en un frasco ámbar, etiquetamos y mantenemos en un lugar oscuro. Luego se toma 1 mL del extracto

vegetal de interés y se afora con etanol al 96% en balones de aforo de 10 mL, en este caso se realiza para los dos extractos tanto para *Croton lechleri Müll.*Arg y *Uncaria tomentosa* Wild.DC, a su vez se prepara una solución de 1000 ppm de ácido ascórbico, después se enciende el espectrofotómetro UV-VIS (Jasco V-630) para la lectura de las soluciones de interés las mismas que se realiza en una longitud de onda de 517 nm.

Preparación de extracto de sangre de Drago (*Croton lechleri Müll.*Arg).

Se prepara 1 mL del extracto de *Croton lechleri Müll.*Arg el cual se afora a 10 mL en etanol al 96%, posteriormente se prepara siete frascos pequeños color ámbar con las siguientes soluciones que indica la tabla:

Tabla 8 Soluciones del extracto. Fuente: Autora

Frascos	DPPH	Procedimiento:
Blanco	2.9 mL	100 μl etanol al 96%
1	2.9 mL	1 μl extracto de sangre de drago + 99 μl etanol al 96%
2	2.9 mL	5 μl extracto de sangre de drago + 95 μl etanol al 96%
3	2.9 mL	10 μl extracto de sangre de drago + 90 μl etanol al 96%
4	2.9 mL	20 μl extracto de sangre de drago + 80 μl etanol al 96%
5	2.9 mL	50 μl extracto de sangre de drago + 50 μl etanol al 96%
6	2.9 mL	80 μl extracto de sangre de drago + 20 μl etanol al 96 %
7	2.9 mL	100 μl extracto de sangre de drago

Una vez preparada las soluciones en frascos ámbar se colocan en un vaso de precipitación, y se deja agitar a 200 rpm durante una hora a temperatura ambiente.

Encerar el espectrofotómetro con etanol al 96%, luego medimos la absorbancia a través de las celdas con las soluciones de forma ordenada.

Para calcular el porcentaje de inhibición de la actividad antioxidante según (Díaz, Méndez, Oliveira, Zaldivar, Mancini & Vidal, 2015) para cada mezcla fue calculada de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \left(1 - \frac{\mathrm{A_m}}{\mathrm{A_b}}\right) * 100$$

Donde:

A_m: Representa la absorbancia del DPPH con extracto.

A_b: Representa la absorbancia del DPPH sin el extracto o llamado blanco.

Preparación de extractos de uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC).

Se prepara 1 mL del extracto de *Uncaria tomentosa* Wild.DC el cual se afora a 10 mL en etanol al 96%, posteriormente se prepara siete frascos pequeños color ámbar con las siguientes soluciones que indica la tabla 9. Una vez preparada las soluciones en frascos ámbar se colocan en un vaso de precipitación, y se deja agitar a 200 rpm durante una hora a temperatura ambiente.

Encerar el espectrofotómetro con etanol al 96%, luego medimos la absorbancia a través de las celdas con las soluciones de forma ordenada.

Tabla 9 Soluciones del extracto. Fuente: Autora

Frascos	DPPH	Procedimiento:
Blanco	2.9 mL	100 μl etanol al 96%
1	2.9 mL	1 μl extracto de uña de gato + 99 μl etanol al 96%
2	2.9 mL	5 μl extracto de uña de gato + 95 μl etanol al 96%
3	2.9 mL	10 μl extracto de uña de gato + 90 μl etanol al 96%
4	2.9 mL	20 μl extracto de uña de gato + 80 μl etanol al 96%
5	2.9 mL	50 μl extracto de uña de gato + 50 μl etanol al 96%
6	2.9 mL	80 μl extracto de uña de gato + 20 μl etanol al 96%
7	2.9 mL	100 μl extracto de uña de gato

Para calcular el porcentaje de inhibición de la actividad antioxidante según (D. Díaz et al., 2015) para cada mezcla fue calculada de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\%\ Inhibición = \left(1 - \frac{A_m}{A_b}\right) * 100$$

Donde:

A_m: Representa la absorbancia del DPPH con extracto.

A_b: Representa la absorbancia del DPPH sin el extracto o llamado blanco.

3.5 Método estadístico: Actividad Antioxidante

3.5.1 Actividad Antioxidante

Es un proceso por el cual una sustancia es capaz de reducir o atrapar los radicales libres del ambiente.

3.5.2 Características de los tratamientos

En la tabla 8 representa los tratamientos según la concentración del tipo de extracto que se realizará por cada muestra vegetal para comprender la capacidad antioxidante.

Tabla 10 Características de los tratamientos para cada planta

Tratamiento	Tipo de extracto
T_1	Extracto 20
T_2	Extracto 50
T_3	Extracto 80
T_4	Extracto 100

3.6 Tipo de Análisis Estadístico

Para el análisis de los resultados obtenidos a través de las diferentes pruebas realizadas a las dos muestras vegetales de interés y al ácido ascórbico se opta por proceder con el siguiente análisis estadístico:

3.6.1 Diseño de Bloques Completamente al Azar

Es uno de los análisis estadísticos que se basa en el diseño experimental, el cual es equivalente a los tratamientos que se asignan de forma al azar a un conjunto de bloques o repeticiones. El bloque contiene de forma al azar los tratamientos, lo que quiere lograr este diseño es seleccionar los bloques de tal manera que la variabilidad interna sea mínima (Fallas, 2012).

Por lo tanto en tabla 11 se presenta la recolección de los datos obtenidos de las muestras vegetales de interés.

Tabla 11 Datos obtenidos de muestras vegetales

Extractos:	**Sangre de drago**				**Uña de gato**			
Repetición	T_1 20 μl	T_2 50 μl	T_3 80 μl	T_4 100 μl	T_1 20 μl	T_2 50 μl	T_3 80 μl	T_4 100 μl
1								
2								
3								

Donde:

Tratamientos: $T_1, T_2,\ T_3$ y T_4 representan a los diferentes tratamientos de concentraciones de 20 μg/mL, 50 μg/mL, 80 μg/mL y 100 μg/mL de las sustancias experimentadas.

Bloque 1: se refiere al porcentaje de inhibición de radicales libres del extracto por ejemplo de *Croton lechleri Müll.*Arg y el otro al porcentaje de inhibición del radical del patrón de referencia en este caso de ácido ascórbico-vitamina C-que permite su comparación.

Repeticiones: es el número de veces-dos-que se realizan las pruebas por cada concentración en cada bloque.

3.6.2 Análisis de Varianza

Este método estadístico de análisis de varianza permite determinar un conjunto de muestras aleatorias a partir de una variable que es de la misma población a su vez este

conjunto de muestras se ve afectado por un tratamiento en específico, es decir permite la comparación de dos bloques para determinar sus diferencias o similitudes (Fernández, 2010).

La relación de F, en la tabla 12, representa la hipótesis Nula:

- Todos los promedios de tratamientos-concentración-son iguales.
- Todos los promedios de bloques-porcentajes de inhibición de radicales libres de la sustancia experimentada y del patrón de referencia-son iguales.

De esta manera se quiere evaluar si el porcentaje de Inhibición de Radicales Libres de *Croton lechleri Müll.*Arg es similar o diferente al ácido ascórbico.

De igual forma se quiere evaluar si el porcentaje de Inhibición de Radicales Libres de *Uncaria tomentosa* Wild.DC es similar o diferente al ácido ascórbico.

Por último se valora si el porcentaje de Inhibición de Radicales Libres de *Croton lechleri Müll.*Arg es similar o diferente de la *Uncaria tomentosa* Wild.DC para determinar cuál de los dos extractos posee mayor capacidad antioxidante.

Se utilizará la siguiente tabla:

Tabla 12 ANOVA de los extractos naturales. Fuente: Autora

FV	SC	GL	CM	Fo	Valor-p
Tratamientos	SCTRAT	k-1	CMTRAT	CMTRAT/CME	P(F>Fo);0,05
Error	SCE	N-k	CME		
Total	SCT	N-1			

CAPÍTULO IV

4.1 Fase 1 Recolección de muestra vegetal

Al principio de la investigación se realizó la recolección de las muestras vegetales, por tanto cada planta fue sometida a procesos de secado y molido, posteriormente la muestra vegetal pulverizada se somete con etanol al 96%. En el caso de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) presenta un color café a diferencia de la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) que presenta un color naranja oscuro hasta la obtención de los extractos etanólicos. De acuerdo con Florián (2016), propone que el mejor método de extracción es la maceración alcohólica a su vez menciona que se obtiene una buena extracción si se deja por más de siete días.

4.2 Fase 2 Caracterización

Posteriormente con estos extractos se realizó el tamizaje fitoquímico o *screening* fitoquímico, en la cual se determinan los posibles metabolitos secundarios.

4.2.1 Caracterización cualitativa

El *screening* fitoquímico realizado a los extractos etanólicos presenta como resultado lo siguiente:

Tabla 13 Resultados *screening* fitoquímico en Taninos. Fuente: Autora

Taninos	**Sangre de drago(*Croton lechleri Müll.*Arg)**	**Uña de gato(*Uncaria tomentosa* Wild.DC)**
Resultado	+	+

(+) Presencia del metabolito secundario (-) Ausencia del metabolito secundario

La presencia de taninos en la sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) se determina al reaccionar con cloruro férrico, la misma que dio positiva ya que se torna de color marrón según el autor los taninos catéquicos se tornan de dicho color (Allaica, 2015).

La presencia de taninos en la uña de gato (*Uncaria Tomentosa* Wild.DC) se determina al reaccionar con cloruro férrico, la misma que dio positiva a diferencia de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) se torna de color verde intenso de acuerdo con el autor indica que son taninos hidrosolubles ya que se tornan de dicho color (Rojas, Santana, Román, Reyes & Sánchez, 2010).

Tabla 14 Resultados *screening* fitoquímico en Fenoles. Fuente: Autora

Fenoles	**Sangre de drago(*Croton lechleri Müll.*Arg)**	**Uña de gato(*Uncaria tomentosa* Wild.DC)**
Resultado	+	+

(+) Presencia del metabolito secundario (-) Ausencia del metabolito secundario

De acuerdo con los autores Romero, Domínguez y Guzmán (2014), la presencia positiva de fenoles se torna de color negro y en ambos casos los extractos tanto de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) como en la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) son de dicho color.

Tabla 15 Resultados *screening* fitoquímico en Flavonoides. Fuente: Autora

Flavonoides	**Sangre de drago(*Croton lechleri Müll.*Arg)**	**Uña de gato(*Uncaria tomentosa* Wild.DC)**
Resultado	+	+

(+) Presencia del metabolito secundario (-) Ausencia del metabolito secundario

A los flavonoides se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, antibacterial, antialérgica de acuerdo con la prueba realizada es positiva para ambos extractos etanólicos variando su color, en el caso de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) se visualiza

un color naranja y en la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) se visualiza un color rojizo ladrillo (Horna & Aguirre, 2011).

Tabla 16 Resultados *screening* fitoquímico en Saponinas. Fuente: Autora

Saponinas	**Sangre de drago(*Croton lechleri Müll.*Arg)**	**Uña de gato(*Uncaria tomentosa* Wild.DC)**
Resultado	+	+

(+) Presencia del metabolito secundario (-) Ausencia del metabolito secundario

En esta prueba ambos extractos presentan espuma con más de 2 mm de altura por un tiempo prolongado, para las muestras tanto de sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) como de uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) consecuentemente son positivas (Cevallos *et* al., 2016).

Tabla 17 Resultados *screening* fitoquímico en Alcaloides. Fuente: Autora

Alcaloides	**Sangre de drago(*Croton lechleri Müll.*Arg)**	**Uña de gato(*Uncaria tomentosa* Wild.DC)**
Resultado	+	+

(+) Presencia del metabolito secundario (-) Ausencia del metabolito secundario

La presencia de alcaloides contribuye a propiedades inmunoestimulantes, en caso de los dos extractos analizados en el tamizaje fitoquímico son positivos ya que presentaron un precipitado tanto en el extracto de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) como en la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) tornándose un color más oscuro del extracto inicial (Rojas *et* al., 2010).

Tabla 18 Resumen del *screening*. Fuente: Autora

Principio Activo		**Interpretación**
Taninos	Positiva	En *Croton lechleri Müll.*Arg: marrón. En *Uncaria tomentosa* Wild.DC: verde.
Fenoles	Positiva	En *Croton lechleri Müll.*Arg: negro. En *Uncaria tomentosa* Wild.DC: negro.
Flavonoides	Positiva	En *Croton lechleri Müll.*Arg: naranja. En *Uncaria tomentosa* Wild.DC: rojizo ladrillo.
Saponinas	Positiva	En *Croton lechleri Müll.*Arg: espuma normal. En *Uncaria tomentosa* Wild.DC: espuma abundante.
Alcaloides	Positiva	En *Croton lechleri Müll.*Arg: precipitado. En *Uncaria tomentosa* Wild.DC: precipitado.

4.3 Determinación de capacidad antioxidante

Los extractos etanólicos de esta investigación demostraron mayor capacidad para atrapar al radical DPPH, con ello se tomó en cuenta el valor de IC_{50} que corresponde a la concentración necesaria para disminuir en un 50% la absorbancia inicial del DPPH.

Seguidamente para la determinación de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de interés y del patrón de referencia siendo este el ácido ascórbico, se logró indicar en las tablas 19, 20, 21 los siguientes resultados:

Tabla 19 Resultado de actividad radical del ácido ascórbico. Fuente: Autora

Concentra-ción	**Absorban-cia 1**	**Absorban-cia 2**	**Absorban-cia 3**	**Prome-dio**	**%Inhibi-ción**	**$IC_{50}(\mu g/mL)$**
20	1.2432	1.2956	1.2468	1.2619	4.5775	5.1499
50	1.1905	1.191	1.2005	1.1940	9.7096	
80	1.048	1.049	1.0495	1.0488	20.6871	
100	0.9763	0.975	0.985	0.9788	25.9856	

De acuerdo con los porcentajes obtenidos de ácido ascórbico o llamada vitamina C en la inhibición de radicales libres, se determina que la mayor concentración de porcentaje de radicales libres posee el 25.98%, la misma que se obtuvo después de esperar una hora en el agitador a 200 rpm, a su vez se identificó la concentración mínima necesaria para inhibir al 50% el DPPH con un valor de 5.1499 que se expresa en microgramos sobre mililitro.

Tabla 20 Resultado de la actividad radical de la sangre de drago. Fuente: Autora

Concentra-ción	**Absor-ción 1**	**Absor-ción 2**	**Absor-ción 3**	**Prome-dio**	**%Inhibi-ción**	**$IC_{50}(\mu g/mL)$**
20	0.1386	0.1410	0.1409	0.1402	94.9460	11.0404
50	0.1654	0.1675	0.1672	0.1667	93.9893	
80	0.1859	0.1868	0.1865	0.1864	93.2790	
100	0.2047	0.2068	0.2060	0.2058	92.5783	

En el caso de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) el porcentaje de inhibición de radicales libres es de 94.9460%, el cual se obtuvo al esperar una hora en el agitador a 200 rpm, posteriormente se enceró con etanol al 96% en el espectrofotómetro y se procedió a obtener las absorbancias tomando en cuenta el blanco de 2.7734 dando como resultado que la concentración mínima para inhibir al 50% al DPPH tiene un valor de 11.0404

el cual se expresa en microgramos sobre mililitro. Según indica el autor Carrión *et* al.,(2009) en su estudio con la planta sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg*)* refiere que la actividad antioxidante es mayor en los extractos etanólicos obteniendo un porcentaje de 90.6% de inhibición de radicales libres en una concentración de quince microgramos sobre mililitro.

Tabla 21 Resultado de la actividad radical de la uña de gato. Fuente: Autora

Concentra-ción	**Absor-ción 1**	**Absor-ción 2**	**Absor-ción 3**	**Promedio**	**%Inhibi-ción**	**$IC_{50}(\mu g/mL)$**
20	0.1333	0.1325	0.1325	0.1328	95.2129	11.0405
50	0.1634	0.1668	0.1678	0.1660	94.0146	
80	0.1747	0.1779	0.181	0.1779	93.5867	
100	0.1988	0.2008	0.2110	0.2035	92.6612	

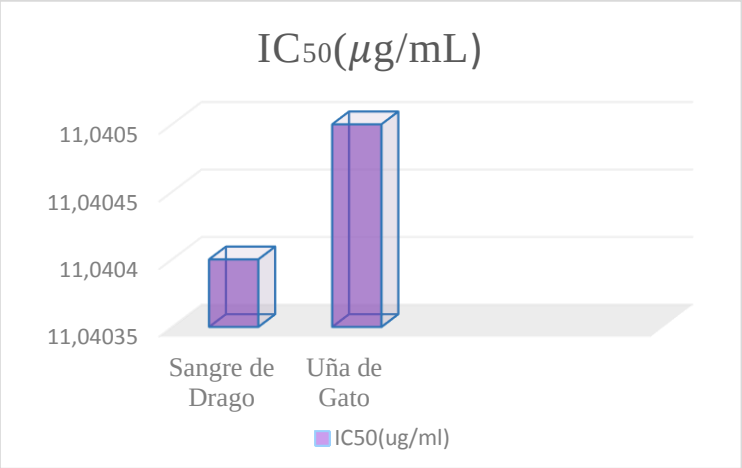
Al evaluar la actividad radical por medio del porcentaje de inhibición de radicales libres de la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) se determinó que la mayor concentración es de 95.2129%, tomando en cuenta el blanco de 1.9890 dando como resultado que la concentración mínima para inhibir al 50% el DPPH tiene un valor de 11.0405 el cual se expresa en microgramos sobre mililitro. De acuerdo con el autor Doroteo *et* al., (2013) se refiere que para calcular la actividad antioxidante se determinó por medio del porcentaje de inhibición de radicales en donde interviene la regresión lineal, de forma que el eje de las "x" expresa la concentración de los extractos hidro-alcohólicos y la ordenada el eje "y" el porcentaje de inhibición de radicales, en este estudio el valor de la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) posee alrededor de 10.45 μg/mL, por tanto el autor concluye que el extracto posee un gran contenido de capacidad antioxidante.

4.4 Valoración capacidad antioxidante a través del método DPPH

Al evaluar la capacidad antioxidante entre los dos extractos por el método DPPH, se obtuvo los siguientes valores:

Tabla 22 Valores capacidad antioxidante de los extractos. Fuente: Autora

Muestras	**$IC_{50}(\mu g/mL)$**
Sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg)	11.0404
Uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC)	11.0405



Gráfica 1 Comparación de valores IC_{50} de los extractos. Fuente: Autora

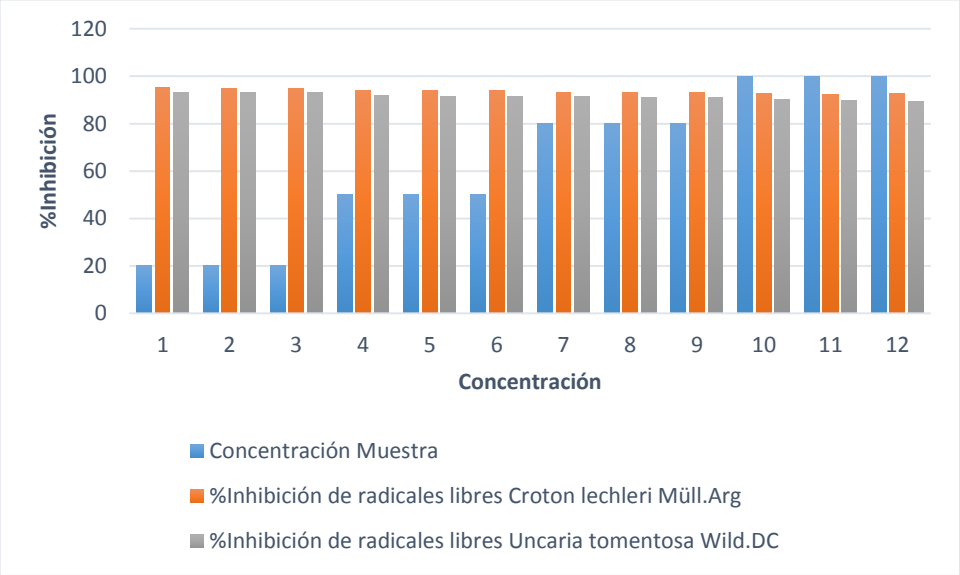
Finalmente en un análisis estadístico descriptivo de barras se identificó los valores de $IC_{50}(\mu g/mL)$ de los diferentes extractos, siendo la sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) la que posee mayor capacidad antioxidante con un valor de 11.0404 μg/mL frente la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) ya que mientras sea menor el valor del IC_{50} mayor será la capacidad antioxidante (Díaz & Moncada, 2017).

4.5 Comparación de la capacidad antioxidante entre los dos extractos

Para cumplir con el objetivo número tres de esta investigación se realiza brevemente un análisis estadístico tanto inferencial como descriptivo con la ayuda del programa informático como Excel e Infostat.

Tabla 23 Relación de la concentración con %Inhibición. Fuente: Autora

Concentración	%Inhibición de radicales libres	
Muestra	*Croton lechleri Müll.*Arg	*Uncaria tomentosa* Wild.DC
20	95.0025	93.2981
	94.9160	93.3384
	94.9196	93.3384
50	94.0362	91.7848
	93.9605	91.6139
	93.9713	91.5636
80	93.2970	91.2167
	93.2646	91.0558
	93.2754	90.8999
100	92.6192	90.0050
	92.5434	89.9045
	92.5723	89.3917



Gráfica 2 %Inhibición de ambas muestras. Fuente: Autora

Para el análisis interferencial se utiliza la prueba de normalidad Shapiro-Wilks debido que las muestras no poseen datos mayores a 50, a partir de la variable dependiente -capacidad antioxidante-, planteando lo siguiente:

Ho: las observaciones tienen distribución normal

Ha: las observaciones no tienen distribución normal

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Muestra	12	62,50	31,66	0,82	0,0229
Croton lechleri	12	93,70	0,92	0,85	0,0702
Uncaria tomentosa	12	91,45	1,35	0,89	0,1928

Fig. 15 Prueba de Shapiro-Wilks. Fuente: Captura tomada del programa Infostat

A través de los datos obtenidos en este caso no hay evidencias para rechazar el supuesto de distribución normal. Por tanto se aplica un diseño completamente al azar, ya que este posee un factor de entrada -variable independiente- y uno de salida -variable dependiente-, con un nivel de confianza del 95% donde el factor de entrada serán las tres lecturas de absorbancias para las cuatro concentraciones a las que se sometió el extracto. Por lo tanto, en las tablas 25 y tabla 26, las pruebas se plantearon con las siguientes hipótesis en donde se realiza un resumen de análisis de varianza de dos factores con varias muestras explicado:

$H_o = u_1 = u_2 = u_3 \ldots\ldots$

$H_a \neq u_1 \neq u_2 \neq u_3 \ldots\ldots$

Tabla 24 Análisis de varianza por bloques de los dos extractos. Fuente Autora

Concentración	*Croton lechleri Müll.*Arg	*Uncaria tomentosa* Wild.DC	Total
20 μl			
Cuenta	3	3	6
Suma	284.8381	279.9749	564.8130
Promedio	94.9460	93.3250	94.1355
Varianza	0.0024	0.0005	0.7895
50 μl			
Cuenta	3	3	6
Suma	281.9680	274.9623	556.9303
Promedio	93.9893	91.6541	92.8217
Varianza	0.0017	0.0134	1.6420
80 μl			
Cuenta	3	3	6
Suma	279.8370	273.1724	553.0095
Promedio	93.2790	91.0575	92.1682
Varianza	0.0003	0.0251	1.4907
100 μl			
Cuenta	3	3	6
Suma	277.7349	269.3012	547.0361
Promedio	92.5783	89.7671	91.1727
Varianza	0.0015	0.1082	2.4148
Total			
Cuenta	12	12	
Suma	1124.3780	1097.4108	
Promedio	93.6982	91.4509	
Varianza	0.8388	1.8114	

Tabla 25 Resultados de los análisis de las varianza por bloques. Fuente: Autora

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Muestra	27.7678	3	9.2559	483.6610	6.65259E-16	3.2389
Columnas	30.3014	1	30.3014	1583.3735	1.97879E-17	4.4940
Interacción	1.0779	3	0.3593	18.7746	1.71661E-05	3.2389
Dentro del grupo	0.3062	16	0.0191			
Total	59.4533	23				

Se determina según los resultados obtenidos que F calculada es mayor que F tabulada por lo cual se acepta la hipótesis alternativa, es decir que hay una diferencia entre el extracto de sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg) frente a la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC). Esto se debe a que el extracto hidro-alcohólico de *Croton lechleri Müll.*Arg presenta un porcentaje de inhibición de radicales libres mayor que la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC).

Posteriormente al obtener los resultados por el método de bloques al azar, como adicional en esta investigación se hace un análisis para varianzas de dos muestras -Prueba F-más un análisis para media de dos muestras suponiendo que sus varianzas son iguales -Prueba t-, ya que brinda un mejor detalle del comportamiento del antioxidante en las siguientes tablas 27, 28:

Hipótesis Nula: $H_o = \sigma_1 = \sigma_2$

Hipótesis Alternativa: $H_a \neq \sigma_1 \neq \sigma_2$

Tabla 26 Prueba F para varianzas de dos muestras de 100 μg/mL. Fuente: Autora

	***Croton lechleri Müll.*Arg**	***Uncaria tomentosa* Wild.DC**
Media	92.5783	89.767052
Varianza	0.0015	0.1082205
Observaciones	3.0000	3
Grados de libertad	2.0000	2
F	0.0135	
P(F<=f) una cola	0.0133	
Valor crítico para F (una cola)	0.0526	
Condición: Si F >Fcrit, Se rechaza Hipótesis Nula		
Determinación: Como F < Fcrit, 0.0135< 0.0526, podemos aceptar la hipótesis Nula, esto quiere decir que la varianza de las dos poblaciones son similares.		

Tenemos que: $H_o = u_1 = u_2$

$H_a \neq u_1 \neq u_2$

Tabla 27 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales. Fuente: Autora

	***Croton lechleri Müll.*Arg**	***Uncaria tomentosa* Wild.DC**
Media	92.5783	89.7670521
Varianza	0.0015	0.10822048
Observaciones	3.0000	3
Varianza agrupada	0.0548	
Diferencia hipotética de las medias	0.0000	
Grados de libertad	4.0000	
Estadístico t	14.7026	
P(T<=t) una cola	0.0001	
Valor crítico de t (una cola)	2.1318	
P(T<=t) dos colas	0.0001	
Valor crítico de t (dos colas)	2.7764	
Condición: Si t>tcrit, Se rechaza Hipótesis Nula		
Determinación: Como t > tcrit, 14.7026 > 2.7764, rechazamos la hipótesis Nula, y aceptamos la hipótesis alternativa, por lo tanto no hay igualdad en las medias de las muestras.		

De los resultados obtenidos tanto en la prueba “F” y prueba “t” de las muestras hidro-alcohólicas con una concentración de 100 μg/mL se determina que F calculado es menor que F crítico por tanto las varianzas no presentan diferencias estadísticas significativas. Mientras que los resultados obtenidos de t calculada es mayor que t crítico por lo que se rechaza la hipótesis nula de homogeneidad de las medias de las muestras.

Finalmente de los análisis estadísticos realizados para esta investigación, podemos concluir que el comportamiento de Inhibición de radicales libres de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll.*Arg*)* frente a uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC*)* no son significativamente similares.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

A partir de la comparación de la capacidad antioxidante de sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) frente a la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) se concluye lo siguiente:

De acuerdo con el *screening* o tamizaje fitoquímico se obtuvo la presencia de: taninos, fenoles, flavonoides, saponinas, alcaloides en ambos extractos, por lo tanto se puede concluir que cada una de las plantas en estudio presentan principios activos lo que permite justificar la capacidad antioxidante otorgada a las mismas.

Los resultados analizados en esta investigación demuestran que el porcentaje de inhibición de radicales libres sobrepasa el 90%, de tal forma que dichas muestras poseen un alto porcentaje de capacidad antioxidante, siendo 0.0001 μg/mL el valor de diferencia entre la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) frente a uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC).

Mediante el análisis estadístico de bloques al azar, el valor de F calculado es mayor que F tabulado por lo que se rechaza la hipótesis nula, dando lugar a que se acepte la hipótesis alternativa, por tanto se determina que la capacidad antioxidante de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) es diferente a la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC).

Se concluye que las plantas analizadas son mejores antioxidantes que el ácido ascórbico-vitamina C-patrón de referencia-, por lo tanto este antioxidante comercial contiene otras sustancias las cuales pueden afectar al grado porcentual de inhibición de radicales libres.

Se confirma la capacidad antioxidante-inhibición de radicales libres- de los dos extractos de las plantas analizadas al observar el cambio de color morado-amarillo al momento de colocar las celdas en el espectrofotómetro por el método DPPH.

La planta analizada que presenta mayor capacidad antioxidante es la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) con valores que van desde 94.95%, 93.99%, 93.28%, 92.58% para las concentraciones de 20 μg/mL y 100 μg/mL respectivamente.

RECOMENDACIONES

Para confirmar la capacidad antioxidante de las plantas: sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) y uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) se recomienda usar otras métodos como el método de decoloración del catión radical-ABTS- o poder de reducción antioxidante del hierro-FRAP-.

Continuar con estudios sobre la capacidad antioxidante de la sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg) así como de la uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC) extrayendo los metabolitos secundarios para cuantificar los mismos, ya que además de sus propiedades antioxidantes también posee propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas.

Para obtener una buena lectura de la capacidad antioxidante se debe realizar los análisis en el menor tiempo posible, debido a que los extractos con los reactivos se degradan.

Para la lectura de las absorbancias en el espectrofotómetro los tubos que contienen el reactivo más los extractos a diferentes concentraciones se recomiendan dejar por una hora en el agitador a 200 rpm.

Probar diferentes métodos de extracción con solventes para obtener los metabolitos secundarios de ambas plantas de esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar, E., & Flores, E. (2018). Estabilidad de Antocianinas , Fenoles totales y Capacidad Antioxidante de Bebidas de Maíz Morado (Zea mays L .) y Uña de Gato (Uncaria tomentosa sp) Stability of Anthocyanin Levels , Total Phenols and Antioxidant Activity of Beverages obtained from Pur. *Información Tecnológica*, *29*(2), 175–184. https://doi.org/dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000200175
2. Allaica, N. (2015). *Comparación del efecto cicatrizante de tinturas elaboradas a base de guarango (Caesalpinia spinosa) y sangre de drago (Croton lechleri) aplicados en ratones (Mus musculus)* (tesis de pregrado). ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO, Riobamba. Retrieved from https://bit.ly/2KDmVRo
3. Altamirano, I. (2015). *Evaluación de la actividad antioxidante de cuatro especies del género croton* (tesis de pregrado). UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, Quito. Retrieved from https://bit.ly/2X7otK8
4. Aparcana, I., & Villarreal, L. (2014). *Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos del fruto de Physalis peruviana " aguaymanto " de diferentes lugares geográficos del Perú* (tesis de pregrado). UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, Lima-Perú. Retrieved from https://bit.ly/2Lh5Ps0
5. Armijos, D., & Patiño, A. (2010). *Herpetofauna de un Bosque Húmedo Tropical en la Quinta "El Padmi" del Centro de Estudios y Desarrollo para la Amazonía (CEDAMAZ), provincia de Zamora Chinchipe*. UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA. Retrieved from http:// https://bit.ly/2RAp1T2
6. Barrera, A. (2015). *Evaluación de la actividad diurética del extracto de*

chuquiragua (Chuquiraga jussieui) en ratas (rattus norvegicus). ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. Retrieved from https://bit.ly/2REWtYw

7. Barros, K., Jaramillo, C., San Martín, D., & D'Armas, H. (2017). Estudio de la calidad bacteriológica de doce plantas medicinales de uso común en Ecuador. Study of the bacteriological quality of twelve medicinal plants commonly used in Ecuador. *Facsalud-Unemi*, *1*(1), 12–17. Retrieved from https://bit.ly/2IH1e0K
8. Boom, E., Orozco, J., Alean, J., & Rojano, B. (2018). Evaluación de la Actividad Antioxidante de Aceites Esenciales de Eucaliptos Cultivados en Colombia. *Información Tecnológica*, *29*(6), 57–66. https://doi.org/10.4067/s0718-07642018000600057
9. Bors, M., Michałowicz, J., Pilarski, R., Sicińska, P., Gulewicz, K., & Bukowska, B. (2012). Studies of biological properties of Uncaria tomentosa extracts on human blood mononuclear cells. *Journal of Ethnopharmacology*, *142*(3), 669–678. https://doi.org/10.1016/J.JEP.2012.05.036
10. Canepa, F. (2018). *Evaluación química del fruto de ´´Charán´´(Caesalpinia paipai Ruiz & Pavón) provenientes de Motupe, Lambayeque.* UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA. Retrieved from https://bit.ly/31LyTOe
11. Carrión, A., & García, C. (2010). *Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia de metódica*. UNIVERSIDAD DE CUENCA. Retrieved from https://bit.ly/2ZMnV9g
12. Carrión, J., Avilés, R., León, K., & Santiago, J. (2009). *Evaluación de la actividad antioxidante, contenido de polifenoles totales y actividad antimicrobiana de fracciones de sangre de grado , Croton lechleri*. *Informe Científico Tecnológico*. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, 25-28 Retrieved

from https://bit.ly/31Q1Pox

13. Castaño, C., & Hernández, P. (2018). Activos antioxidantes en la formulación de productos cosméticos antienvejecimiento. Antioxidant actives in the formulation of anti-aging cosmetic products. *Ars Pharmaceutica*, *59*(2), 77–84. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.30827/ars.v59i2.7218
14. Cervantes, L. (2016). *Extracto de la hojas de Uña de Gato (Uncaria tomentosa) en etapa de crecimiento, sobre los perfiles bioquímicos sanguíneos y parámetros productivos en pollos de carne.* UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA. Retrieved from https://bit.ly/2KFMJfQ
15. Cevallos, D., Jaramillo, C., Cuesta, O., Zaldua, J., Garcia, G., & Rojas de Astudillo, L. (2016). Composición Química,Actividad cicatrizante y toxicidad del látex de Croton lechleri. *Revista Científica*, *XXVI*(2), 95–103. Retrieved from https://bit.ly/2xaBOSJ
16. Choque, M. (2013). *Cuantificación de los compuestos antioxidantes fenólicos y Selenio en Quinua (Chenopodium quinoa Willd)*. UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS. Retrieved from https://bit.ly/2ZOMIK5
17. Ciappini, M., Stoppani, F., Martinet, R., & Alvarez, M. (2013). Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y favonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa Antioxidant activity and content of phenolic and flavonoids compounds in clovers, eucalyptus and lúceme honeys. *Rev. Cienc. Tecno*, *15*(19), 45–51. Retrieved from https://bit.ly/2KCWDz0
18. Cruz, E., & Tapia, P. (2018). *Diversidad y valor de uso de la flora del Bosque Protector privado "AYA PUMA SAMAY" en el cerro Imbabura-Ecuador*. UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE. Retrieved from https://bit.ly/2Ftl6lW
19. Decker, E., Elias, R., & McClements, D. (2010). *Oxidation in Foods and*

Beverages and Antioxidant. (E. Decker & R. Elias, Eds.) (Pennsylvan). Massachusetts: Woodhead Publishing. Retrieved from https://bit.ly/2xmxX5b

20. Díaz, D., Méndez, W., Oliveira, A. M., Zaldivar, C., Mancini, J., & Vidal, A. (2015). Comparación de las propiedades antioxidantes y contenido de polifenoles de extractos acuosos de las algas marinas Bryothamnion triquetrum y Halimeda opuntia Comparation of antioxidants properties and polyphenols content of aqueous extract from seaweeds. *Ars Pharmaceutica*, *56*(2), 89–99. https://doi.org/dx.doi.org/10.4321/S2340-98942015000200003
21. Díaz, S., & Moncada, O. (2017). *Actividad antioxidante del extracto etanólico del mesocarpio del fruto de Hylocereus undatus " pitahaya " e identificación de los fitoconstituyentes.* UNIVERSIDAD WIENER. Retrieved from https://bit.ly/2XrP83T
22. Doroteo, V., Díaz, C., Terry, C., & Rojas, R. (2013). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, *79*(1), 13–20. Retrieved from https://bit.ly/2Futa5O
23. Echavarría, A., D'Armas Regnault, H., Jaramillo, C., Rojas de Astudillo, L., Matute, L., Nubia, L., & Benitez, R. (2018). Evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extractos de dieciséis plantas medicinales Evaluation of antioxidant capacity and secondary metabolites of sixteen medicinal plants extracts. *Ciencia Unemi*, *9*(20), 29. https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol9iss20.2016pp29-35p
24. Espín, N. (2017). *Impregnación de Croton lechleri (SANGRE DE DRAGO) en gasas 100% co enfocado a laceraciones superficiales.* UNIVERSIDAD TECNICA DEL NORTE. Retrieved from https://bit.ly/2YbnTaR
25. Estrada, S. (2010). *Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de los*

extractos de romero (Rosmarinus officinalis) y Tomillo (Thymus vulgaris). *Tesis de Grado*. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. Retrieved from https://bit.ly/2xfwcX6

26. Fallas, J. (2012). ANÁLISIS DE VARIANZA Comparando tres o más medias. Retrieved from https://bit.ly/2IFxtun
27. Fernandes, M. de F., & Oliveira da Silva, N. (2011). Uncaria tomentosa y la lesión renal aguda isquemica en ratas. *Revista Da Escola de Enfermagem Da U S P*, *45*(1), 194–198. https://doi.org/10.1590/S0080-62342011000100027
28. Fernández, S. de la F. (2010). Análisis de la varianza. Retrieved May 7, 2019, from https://bit.ly/2vmZXrc
29. Fitoterapicos. (2014). *Unha-de-Gato (Uncaria tomentosa)*. Retrieved from https://bit.ly/2RPCV63
30. Florián, A. (2016). *Elaboración y análisis sensorial de tres perfumes que contienen extractos de plantas de producción nacional.* UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA. Retrieved from https://bit.ly/2xcU5yQ
31. Fuente, J. (2018). *"Fenoles en Castanea sativa Mill.: desde el monte a la industria."* UniversidadOviedo. Retrieved from https://bit.ly/31SaLcX
32. García, M., Aguilar, A., Gutiérrez, M., Rodríguez, F., Morales, J., Guerrero, P., … Sánchez, C. (2016). Identificación cualitativa de metabolitos secundarios y determinación de la citotoxicidad de extractos de tempisque (Sideroxylum capiri PITTIER). *Biotecnia*, *XVIII*(3), 3–8. Retrieved from https://bit.ly/2X3eroy
33. Giraldo, L. (2015). *Production of Secondary Metabolites in Cell Suspension Cultures of Ocimum sanctum L.* Universidad do Minho, Portugal. https://doi.org/10.1055/s-0034-1394838
34. Gonzalez, V. (2016). *Efecto antimicrobiano de la infusión de manzanilla sobre el*

actinomyces odontolyticus y el actinomyces viscosus: estudio in vitro. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR. Retrieved from https://bit.ly/2XE2Tww

35. Guerrero, N. (2014). *Caracterización fitoquímica y actividad biológica de oryctanthus spicatus (Loranthaceae)*. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE – QUITO. Retrieved from https://bit.ly/2J3G9wz
36. Horna, A., & Aguirre, B. (2011). *Standarización del extracto hidroalcohólico de la Uña de Gato (Uncaria tomentosa) proveniente de la Selva Peruana*. UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO. Retrieved from https://bit.ly/2RD8rBY
37. Intriago, A. (2014). *Elaboración y comercialización de un gel con efecto cicatrizante a base de Sangre de Drago en la iudad de Guayaquil*. UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL. Retrieved from https://bit.ly/2ZN1Ibj
38. Jáuregui, A., Alvarado, C., Blanco, T., Castañeda, B., Quiroz, J., & Alvarado, Á. (2014). Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales. Determination of Phenolic Compounds , Total Flavonoids and Antioxidant Activity in Peruvian Honey From Different Flower. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, *80*(4), 287–297. Retrieved from https://bit.ly/2XrBuOb
39. Jiménez, A., Sánchez, M., & Martínez, M. (2012). OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO CAPTACIÓN DEL RADICAL 2,2- DIFENIL-1-PICRILHIDRAZILO (DPPH) PARA EVALUAR ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN BEBIDA DE CAFÉ. *Anales de Veterinaria de Murcia*, *28*, 67–78. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.6018/j/188731

40. Lara, T. (2010). *Revista en buenas manos*. Obtenido de Usos y propiedades de la Sangre de Drago. Retrieved from https://bit.ly/2YbgyIk

41. Lunzhao, Y., Danjuan, L., Xinhui, L., Jiahui, D., Yuping, L., Yizeng, L., … Zhiqiang, X. (2011). Serum metabolic fingerprinting to detect human nasopharyngeal carcinoma based on gas chromatography-mass spectrometry and partial least squares-linear discriminant analysis. *Analytical Letters*, *44*(8), 1473–1488. https://doi.org/10.1080/00032719.2010.512685

42. Mena, L., Tamargo, B., Salas, E., Plaza, L., Blanco, Y., Otero, A., & Sierra, G. (2015). Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de Sapindus saponaria L . (jaboncillo) Determination of saponins and others secondary metabolites in aqueous extracts of Sapindus saponaria L . (jaboncillo). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, *20*(1), 106–116. Retrieved from https://bit.ly/2Livukb

43. Mendive, F. (2013). Sangre de Grado y Copaiba : resinas amazónicas para el cuidado de la piel. *Takiwast*, *10*(5), 12561–12570. https://doi.org/10.3390/molecules181012561.7.

44. Olivo, A. (2016). *CONTROL DE INSECTOS PLAGAS A BASE DE CINCO INSECTICIDAS BOTÁNICOS EN EL CULTIVO DE MANÍ (Arachis hypogaea L.)*. UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL. Retrieved from https://bit.ly/2Jb7EEe

45. Palacios, M. (2013). Farmacognosia y Fitoquímica. Retrieved April 4, 2019, from https://bit.ly/2ZJkhgt

46. Pérez, A. (2017). *"Efecto Cicatrizante Del Croton Lechleri'Sangre De Drago'En Cirugía De Terceros Molares En El Hospital Provincial General Docente Riobamba."* UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO. Retrieved from

https://bit.ly/2X3XWZk

47. Pérez, S. (2016). *Determinación de Flavonoides y Actividad Antioxidante de Cladodios de Nopal (Opuntia ficus-indica)*. UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL FACULTAD. Retrieved from https://bit.ly/2X6fzwC
48. Quintela, J., & Lock de Ugaz, O. (2014). Uña de gato. Uncaria tomentosa (Willd.) DC. *Revista de Fitoterapia*, *3*(November), 5–19. Retrieved from https://bit.ly/2YdgUOz
49. Reyes, A., Galicia, M., & Carrillo, M. (2011, December). Antioxidantes: La magia de lo natural. *Tlatemoani*, *8*, 1–16. Retrieved from https://bit.ly/2X1Qlzr
50. Rivas, C., Oranday, M., & Verde, M. (2016). *Cultivo de tejidos vegetales y su aplicación en productos naturales*. (C. Rivas, M. Oranday, & M. Verde, Eds.), *Investigación en plantas de importancia médica* (Universida). México: © OmniaScience (Omnia Publisher SL). https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3926/oms.313 ©
51. Rojas, I., Santana, A., Román, E., Reyes, R., & Sánchez, G. (2010). Tecnología Análisis botánico y químico de la corteza de Uncaria tomentosa (Willd . ex Roemer & Schultes) DC. *Ciencia y Tecnología*, *9*(Diciembre), 55–66. Retrieved from https://bit.ly/2ZR4vjT
52. Rojas, L., Jaramillo, C., & Lemus, M. (2015). *Métodos Analíticos para la Determinación de Metabolitos Secundarios de Plantas*. (T. Fontaines, K. L. Zambrano, J. Maza, & C. Aguilar, Eds.) (UTMACH). Machala-Ecuador: UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA. Retrieved from https://bit.ly/2x8BaVN
53. Romero, R., Domínguez, G., & Guzmán, D. (2014). Cuantificación de polifenoles en hojas de un clon de Uncaria tomentosa (WILLD . EX SCHULT) D.C.,

proveniente de tres localidades de la región Ucayali. *Rev Soc Quím*, *80*(3), 174–181. Retrieved from https://bit.ly/2YaeIaw

54. Salguero, M. (2016). *Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata usando como reductores extractos de menta (Origanum vulgare) y cilantro (Coriandrum sativum), y como funcionalizante el látex de sangre de drago (Croton lechleri)*. PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR. Retrieved from https://bit.ly/2IICPaU
55. Sandoval, C. (2012). *Capacidad antioxidante del extracto atomizado de Uña de Gato (Uncaria tomentosa) y efecto sobre los perfiles bioquímicos sanguíneos, constantes hematológicas y parámetros productivos en pollos de carne*. UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA. Retrieved from https://bit.ly/2KBzzk4
56. Suárez, S., Castro, A., & Ale, N. (2014). Actividad antioxidante in vitro de un extracto acuoso de Allium Sativum variedad Huaralino. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, *80*(4), 308–316. Retrieved from https://bit.ly/2Lm3jRg
57. Tupiza, Y. (2016). *Elaboración de una crema gelificada y mascarilla a base de sangre de drago (Croton lechleri) dirigido a pieles acnéicas en pacientes de 14 a 21 años en la Unidad Educativa Alangasí.* UNIVERSIDAD IBEROAMERICANA DEL ECUADOR UNIB.E. Retrieved from https://bit.ly/31Pelo1
58. Valares, C. (2011). *Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente*. UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA. Retrieved from https://bit.ly/2X6Zs1y
59. Valencia, E. (2013). *Validación y Actualización del uso de plantas medicinales presentes en la Selva Valdiviana*. Universidad Austral de Chile. Retrieved from

https://bit.ly/2NbL2Jc

60. Vallejo, E., Rojas, A., & Torres, O. (2017). Una poderosa herramienta en la medicina preventiva del cáncer : los antioxidantes. *Revisión- Opinión*, *12*(3), 104–111. Retrieved from https://bit.ly/2x8BVOD

ANEXOS

Anexos 1 Lista de abreviaturas

ABTS	Ácido 2,2´, azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico.
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazilo
°C	Grado Celsius.
IC_{50}	Concentración necesaria para disminuir en un 50% la actividad antioxidante.
CPF	Compuestos poli fenólicos.
TC	Taninos hidrolizados.
$FeCl_3$	Cloruro férrico.
%	Símbolo denota porcentaje.
mm	Longitud de medida: milímetro.
μg	Unidad de masa: microgramos.
mL	Unidad de volumen: mililitro.
rpm	Partes por millón.
nm	Longitud de onda.

Anexos 2 *Screening* o tamizaje fitoquímico

Fig. 16 Sangre de drago *(Croton lechleri Müll.*Arg) prueba de Flavonoides

Fuente: Autora

Fig. 17 Uña de gato *(Uncaria tomentosa* Wild.DC*)* prueba Flavonoides

Fuente: Autora

Fig. 18 Prueba de Fenoles en sangre de drago *(Croton lechleri Müll.*Arg*)*

Fuente: Autora

Fig. 19 Prueba de Fenoles uña de gato *(Uncaria tomentosa* Wild.DC*)*

Fuente: Autora

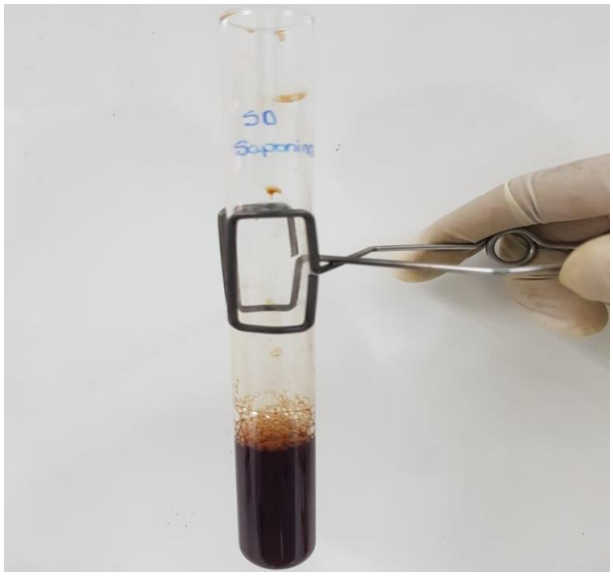


Fig. 20 Prueba de Saponinas en sangre de drago *(Croton lechleri Müll.*Arg*)*

Fuente: Autora

Fig. 21 Prueba de Saponinas en uña de gato *(Uncaria tomentosa* Wild.DC*)*

Fuente: Autora

Fig. 22 Prueba de Taninos en sangre de drago *(Croton lechleri Müll.*Arg*)*

Fuente: Autora

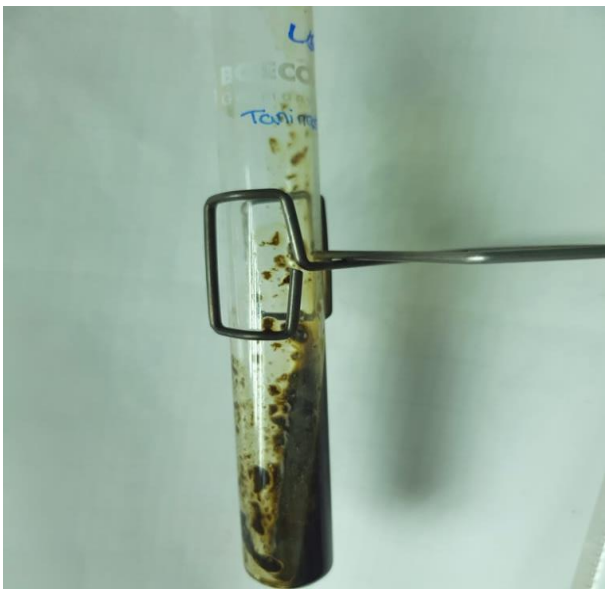


Fig. 23 Prueba de Taninos en uña de gato *(Uncaria tomentosa* Wild.DC*)*

Fuente: Autora

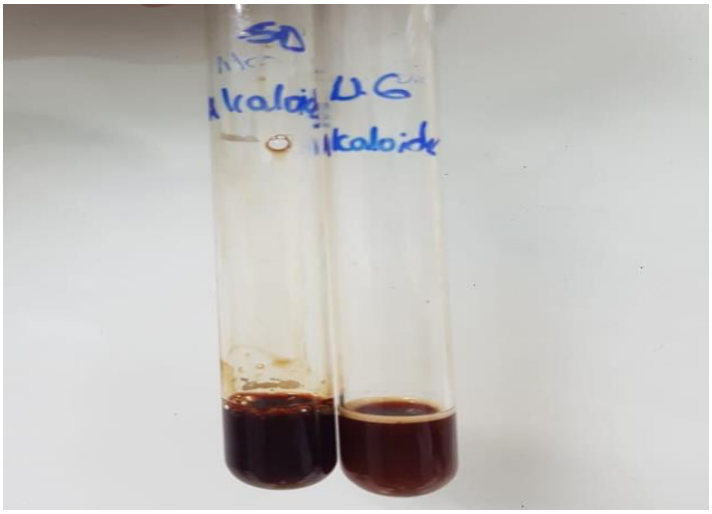


Fig. 24 Prueba de Alcaloides en ambas muestras. Fuente: Autora

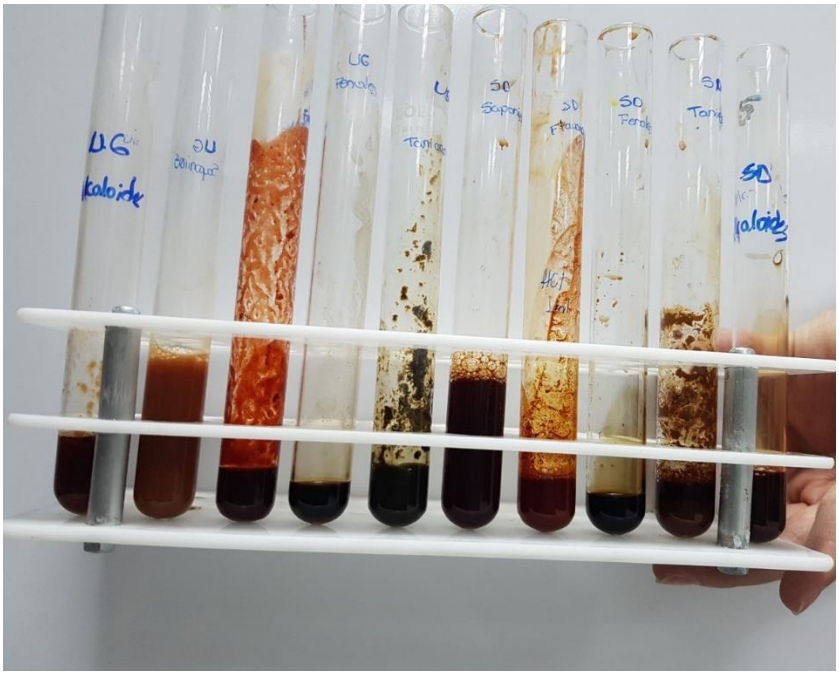


Fig. 25 Resumen de las pruebas del *screening* fitoquímico de ambas plantas.

Fuente: Autora

Anexos 3 Método DPPH

Fig. 26 Reactivo DPPH aforado con etanol al 96% en 250 mL. Fuente: Autora

Fig. 27 *Uncaria tomentosa* Wild.DC aforado con etanol al 96%. Fuente: Autora

Fig. 28 Patrón de referencia vitamina C. Fuente: Autora

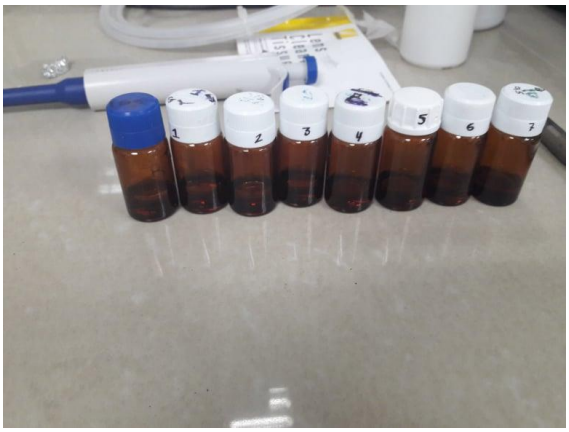


Fig. 29 Frascos para las muestras preparadas. Fuente: Autora

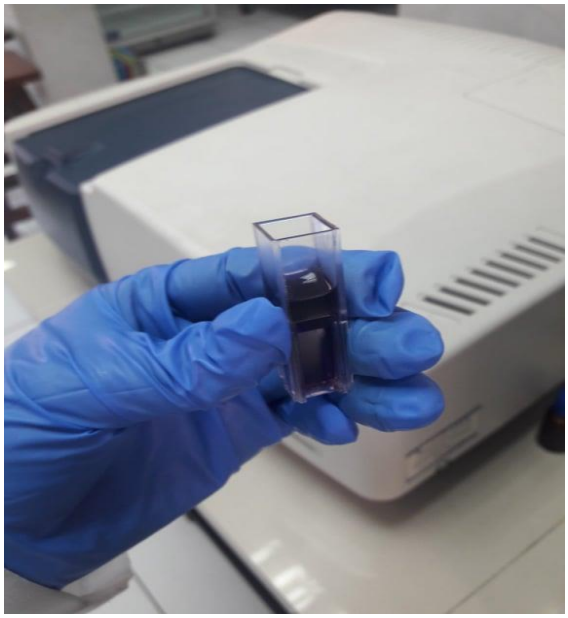


Fig. 30 Celda del Blanco. Fuente: Autora

Anexos 4 Curva de calibración para ácido ascórbico

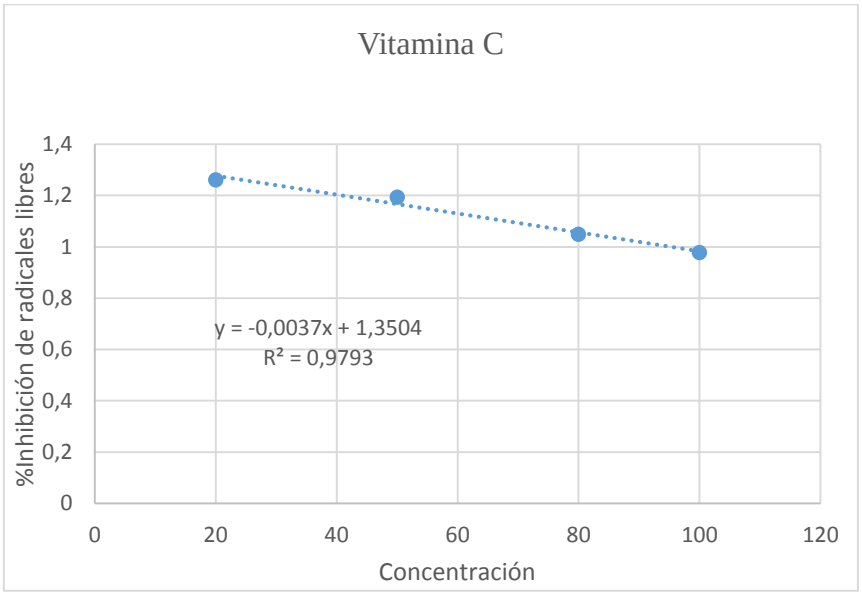


Fig. 31 Concentración vs %Inhibición del ácido ascórbico.

Fuente: Autora

Anexos 5 Curva de calibración para sangre de drago (*Croton lechleri Müll*.Arg).

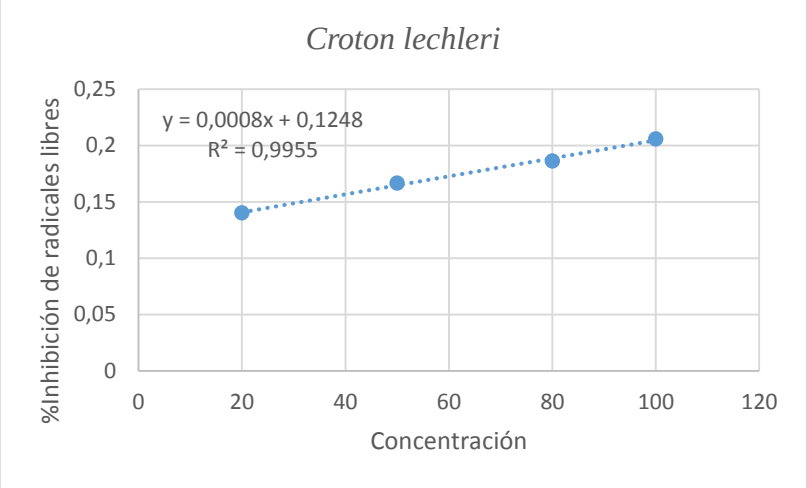


Fig. 32 Concentración vs %Inhibición de radicales libres.

Fuente: Autora

Anexos 6 Curva de calibración para uña de gato (*Uncaria tomentosa* Wild.DC)

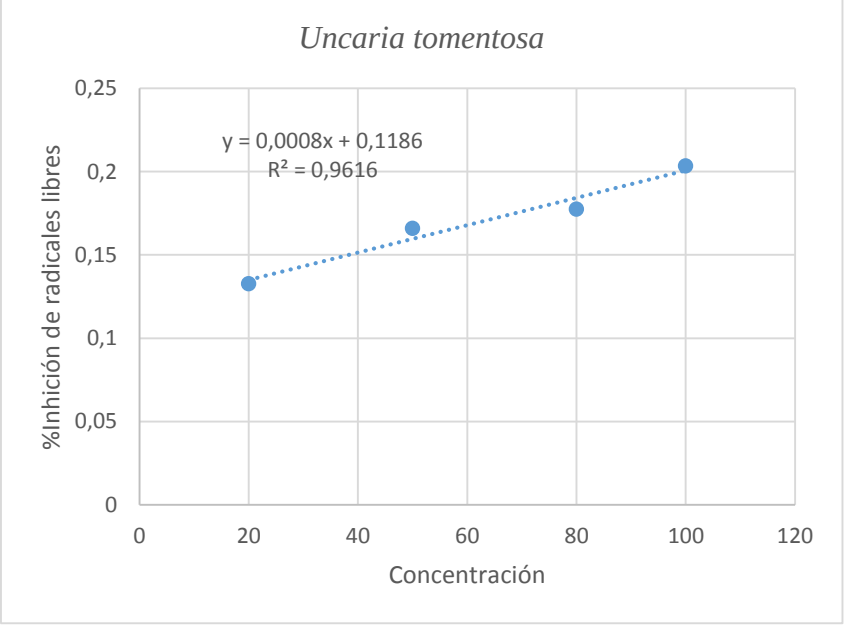


Fig. 33 Concentración vs %Inhibición

Fuente: Autora

Anexos 7 Gráficos de Normalidad

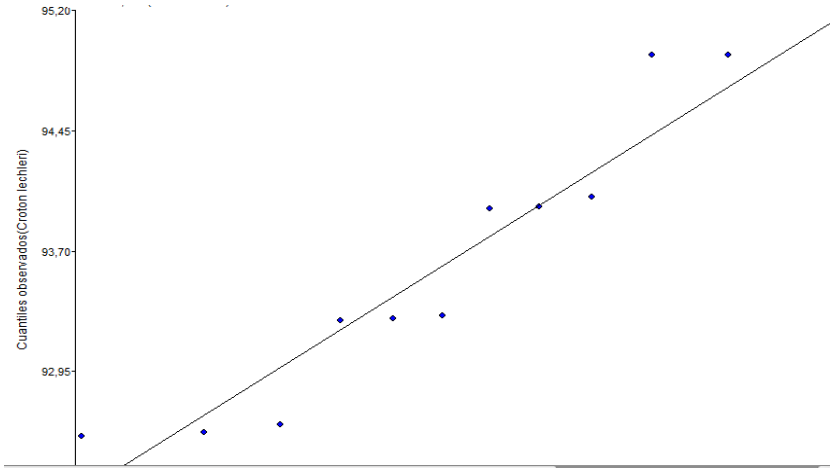


Fig. 34 *Croton lechleri Müll.*Arg: Concentración vs % Inhibición en el programa de Infostat

Fuente: Autora

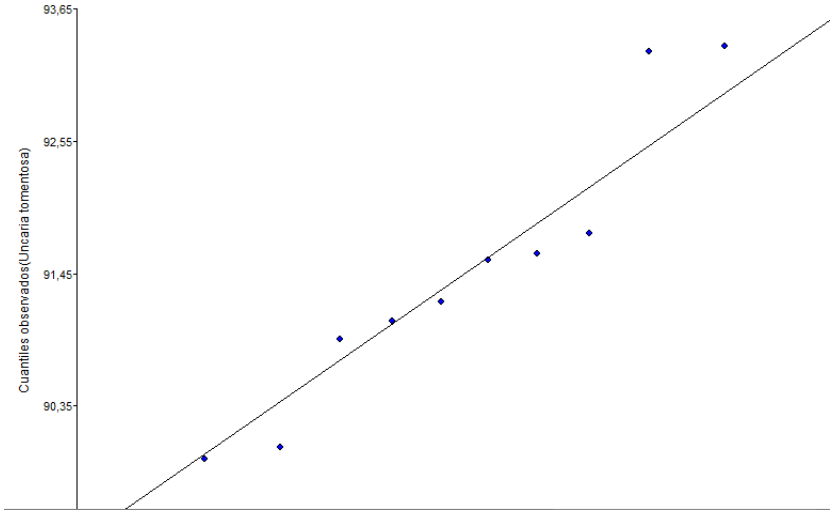


Fig. 35 *Uncaria tomentosa* Wild.DC: Concentración vs % Inhibición en el programa de Infostat

Fuente: Autora