



Facultad de Ciencias de la Salud
Carrera Profesional de Nutrición y Dietética

Compuestos Bioactivos y Capacidad Antioxidante de extractos de hoja de Sacha Culantro (*Eryngium foetidum* L.) y de Aceite de Copaiba (*Copaifera paupera*) procedentes de la Provincia de Coronel Portillo, Ucayali.

Tesis para optar el título profesional de
Licenciado en Nutrición y Dietética

Presentado por:
Bach. SILVIO LUIS PUENTE VIGO

LIMA – PERÚ

2019

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 002-DACND-DAFCS-U.CIENTÍFICA-2019

En la ciudad de Lima, al día 07 del mes de mayo de 2019, siendo las 16:05 horas, con la asistencia del Jurado de Tesis, Presidido por la Dra. Joyce Dione Del Pino Robles, los miembros del jurado Lic. Fanny Elizabeth Requena Vela e Ing. Dina Susana Gutierrez Zedano y el Asesor de Tesis Mg. Oscar Reátegui Arévalo, el Bachiller **SILVIO LUIS PUENTE VIGO** autor de la tesis Titulada **"COMPUESTOS BIOACTIVOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE HOJA DE SACHA CULANTRO (*Eryngium foetidum L.*) Y DE ACEITE DE COPAIBA (*Copaifera paupera*) PROCEDENTES DE LA PROVINCIA DE CORONEL PORTILLO, UCAYALI"** con el fin de optar el Título Profesional de Licenciado en Nutrición y Dietética.

Concluida la exposición, se procedió a la evaluación y deliberación por parte del Jurado correspondiente, habiendo sido **APROBADO CON MENCIÓN MUY BUENA** con el calificativo de 17 (DIECISIETE).

Se expide la presente acta en cinco originales y siendo las 16:43 horas, se da por concluido el acto Académico de Sustentación.



Joyce Dione Del Pino Robles
Presidenta
DNI. 10062765



Fanny Elizabeth Requena Vela
Miembro
DNI. 10205271



Dina Susana Gutierrez Zedano
Miembro
DNI. 09395408



Oscar Reátegui Arévalo
Asesor
DNI. 17854305

DEDICATORIA

Dedico esta tesis principalmente a ser mis padres José Luis Puente Sánchez y Aurea Luz Vigo de Puente por su gran esfuerzo de brindarme una educación de primer nivel, por ser siempre los mejores ejemplos a seguir, por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional. A mi hermana, por siempre estar dispuesta a escucharme, ayudarme en cualquier momento y por ayudar en mi crecimiento profesional.

A mi asesor y profesor Oscar Reategui Arévalo, por siempre estar dispuesto a brindarme los conocimientos necesarios y guiarme durante todo el proyecto para poder realizar un excelente trabajo.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por haberme dado Vida, fortaleza y por permitirme llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

Mi cordial agradecimiento a mi asesor Oscar Reategui y a la Carrera de Nutrición por confiar en mi trabajo y en mis conocimientos para ser parte del proyecto de investigación “Evaluación de la Actividad Flebotónica de especies nativas amazónicas del Perú: Sacha Culantro (*Eryngium Foetidum L.*) y Copaiba (*Copaifera Paupera*), procedentes de la Provincia de Coronel Portillo (Ucayali)”, financiada por FONDECYT (Convenio 000151-2015) y a todas las autoridades.

Agradezco a mi compañero Joseph Ballarta por el apoyo mutuo brindado para realizar nuestras tesis, a los profesores Danae Liviac y Rafael Alvis que me han brindado un especial apoyo durante todo el proceso de realización del proyecto.

INDICE

TESIS	¡Error! Marcador no definido.
DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTO	4
RESUMEN	7
1. Introducción	8
2. Material y Métodos	12
2.1 Tipo de Estudio	12
2.2 Población de Estudio	12
2.3 Área de Estudio	12
2.4 Diseño Estadístico	12
2.5 Preparación de la Muestra	13
2.5.1 Para el Sacha Culantro	13
2.5.2 Para el Aceite de Copaiba	13
2.6 Diseño Experimental	13
2.6.1 Extracción de las muestras.	13
2.6.1.1 Extracción para el Sacha Culantro.	13
2.6.1.2 Extracción para el Aceite de Copaiba.	13
2.6.2 Purificación de las muestras	14
2.6.3 Pruebas fisicoquímicas utilizadas	14
2.6.3.1 Capacidad antioxidante FRAP	14
2.6.3.2 Flavonoides	14
2.6.3.3 Polifenoles totales	15
2.6.3.4 DPPH	15
2.6.3.5 Thiobarbutiric acid rective substances – (TBARS)	15
2.6.4 Reactivos Químicos	16
2.6.5 Equipos	16
3. Resultados	17
4. Discusión de Resultados	33
5. Conclusiones y Recomendaciones	40

6. Referencias Bibliográficas	42
7. Anexos	47

RESUMEN

Introducción: En las últimas décadas, muchas plantas medicinales y sus compuestos bioactivos cada vez más han estado recibiendo interés del público como medicinas complementarias y alternativas. La OMS ha sugerido la evaluación de la eficacia de estos fármacos en base a plantas medicinales, debido a la falta de información científica (Chua, 2013). En este contexto, se propone evaluar los Compuesto Bioactivos y la capacidad Antioxidante de extractos metanólicos, acetónicos y etanólicos de hoja de Sacha Culantro y aceite de copaiba con el fin de buscar contenido de Flavonoides y Polifenoles totales, tales como la Quercetina, Rutina y Kaempeferol. **Objetivo.** Determinar compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de la hoja de Sacha Culantro (*Eryngium foetidum L.*) y del Aceite de Copaiba (*Copaifera paupera*) **Método:** **Diseño de Investigación:** El tipo de estudio realizado fue analítico, no experimental, transversal y prospectivo. **Diseño Metodológico:** Se extrajo 20Kg de hojas de Sacha Culantro de acuerdo a la técnica descrita por Reichel et al. (2011), luego se realizó la técnica de Purificación en Fase Sólida (SPE) descrita por Erakli et al. (2012), seguidamente se evaporó en presión reducida (Rotavapor) hasta obtener el extracto sólido puro, finalmente se desarrolló las pruebas físico-químicas propuestas. Del mismo modo para la extracción del Aceite de Copaiba se llevó a cabo de acuerdo a la técnica descrita por Vieira et. al. (2012) con modificaciones para su uso en la obtención de extractos Metanólicos y Etanólicos. **Resultados.** Para el Sacha Culantro el extracto Acetónico fue quien presentó mayor contenido de Polifenoles totales 25.6 ± 0.2 (mg EAG/g RSP), mayor cantidad de Flavonoides 8.77 ± 0.28 (mg Eq. Cat/100g RSP) y mayor Capacidad Antioxidante FRAP 93.86 ± 3.37 (nmoles Fe^{2+} /g RSP); el Extracto Metanólico obtuvo mayor capacidad antioxidante DPPH 0.89 ± 0.05 (μ mol TEAC/g RSP- EC50) e inhibición de formación de MDA 19.60 ± 0.56 (μ g MDA/g RSP). Para el Aceite de Copaiba el extracto Metanólico fue quien presentó mayor contenido de Polifenoles totales 1.81 ± 0.26 (mg EAG/g RP), mayor cantidad de Flavonoides 3.31 ± 0.21 (mg Eq. Cat/100g RP) y mayor Capacidad Antioxidante FRAP 2.76 ± 0.032 (nmoles Fe^{2+} /g RP) e inhibición de la formación de MDA 11.83 ± 0.21 (μ g MDA/g RP). **Conclusión:** Se encontró cantidades considerables en el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de los extractos metanólicos y acetónicas de la hoja de Sacha Culantro y Metanólicos y etanólicos del Aceite de Copaiba. **Palabras Clave:** Capacidad Antioxidante, Compuestos Bioactivos, Purificación (SPE), DPPH, TBARS, Residuo Sólido Purificado (RSP), Residuo Purificado (RP).

1. Introducción

En las últimas décadas, cada vez más plantas medicinales y sus compuestos bioactivos están recibiendo mayor interés del público como medicinas complementarias y alternativas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha sugerido la evaluación de la eficacia de estos fármacos en base a plantas medicinales debido a la falta de información científica (Chua, 2013).

La Amazonía peruana cuenta con especies vegetales de reconocida actividad medicinal y otras muy poco conocidas, por lo tanto, urge que a través de técnicas científicas modernas de investigación, se evalúe los compuestos bioactivos procedentes de plantas medicinales, en especial lo relacionado al contenido de polifenoles totales y flavonoides, los que constituyen y contribuyen con la actividad antioxidante de estas plantas, cuya importancia sería vital para la prevención e interferencia de muchas enfermedades (Flores, 1997).

Hoy en día, la etnomedicina, en particular en relación con los productos de la biodiversidad amazónica, se ha convertido en una herramienta importante en el desarrollo de nuevos fitofármacos. El aceite de Copaiba es un importante producto natural que se utiliza en la medicina tradicional, extraído de un árbol de 30-35 metros que pertenece a la familia *Caesalpiniaceae*, orden *Fabales*, sub-clase *Rosidae* y de nombre científico *Copaífera paupera* (Herzog) Dwyer. Los estudios farmacológicos con la oleoresina de Copaiba muestran que su uso está plenamente justificada por los indios (Garg 2012). Las pruebas *in vivo* y *in vitro* han demostrado que los aceites de varias especies de *Copaifera* poseen capacidad antiinflamatoria, antiséptico, cicatrización de heridas, antitumoral y antibacteriana (Lima, 2011).

Con respecto al Sacha Culantro, El género *Eryngium* L. se distribuye en todo el mundo, principalmente en Eurasia, norte de África y sur de América (Worz, 2004). Con cerca de 250 especies, representa la más grande y taxonómicamente más complejo género de la familia *Apiaceae* (Calvino et al., 2007). A pesar de su uso generalizado para la gastronomía y como un agente etnomedicinal, recientemente ha habido una proliferación de investigaciones fitoquímicas en la planta. La mayor parte de estas investigaciones se concentran en los aceites esenciales volátiles

donde se han identificado cerca de cuarenta compuestos. Sigue existiendo una falta de información sobre los componentes más polares (flavonoides) que son propensos a ser extraído en las pruebas tradicionales usadas como medicina. Asimismo, sólo unas pocas de las supuestas propiedades farmacológicas del extracto de la planta han sido investigados y fueron realizadas in vitro como en modelos animales (Paul et al., 2011).

Varios estudios han analizado las diferentes aplicaciones del Sacha Culantro, Por ejemplo, Odone et al. (2013) indicaron que el tallo de Sacha Culantro se usa para el tratamiento de dolor de oído y malaria en la comunidad Chayahuita de la selva Peruana (Paul et al., 2011). Paul et al. (2011) sostienen que el Sacha Culantro (*Eryngium foetidum*) posee un amplio rango de usos etnomedicinales incluyendo el tratamiento de quemaduras, dolor de oído, fiebre, hipertensión, estreñimiento, asma, dolor de estómago, golpes, lombrices, complicaciones de infertilidad, mordedura de víboras, diarrea y malaria. La evaluación química de las hojas, indican la presencia de flavonoides, taninos, una saponina, varios triterpenoides y aceites esenciales (E-2 dodecenal). Además, Roumy et al. (2007) reportan que las hojas de Sacha Culantro en infusión se usan para el tratamiento contra la diarrea, dolor de estómago y malaria, en las zonas de Pastaza y Napo en la Selva Norte del Perú.

Otra investigación afirma que el *Eryngium foetidum* muestra una actividad reductora sobre el *Plasmodium falciparum*, que es un protozoo parásito que causa la malaria (Ruiz et al. 2010). Al investigar la capacidad clastogénica y anticlastogénica de las hojas de las hojas de *Eryngium foetidum* (EF) mediante el ensayo de micronúcleos en eritrocitos de la sangre periférica de (Promkum et al. 2012) concluyeron que EF no es clastogenico, pero posee un potencial anticlastogenicidad en ratones.

Otros estudios como (García et al. 1999) determinaron que el extracto de hexano de *Eryngium foetidum* es rica en compuestos terpénicos y que tiene una actividad antiinflamatoria. El fraccionamiento cromatográfico de este extracto indica la presencia de alfa-colesterol, brasicasterol, campesterol, estigmasterol (como el componente principal, 95%) clerosterol, beta-sitosterol, Delta 5-avenasterol, Delta (5) 24-estigmastadienol y delta 7-avenasterol. Sáenz et al. (1997) investigaron que la decocción de las hojas de *Eryngium foetidum* muestran propiedades antiinflamatorias, ya que inhibe la inflamación de la oreja de ratón causada por 12-O-TPA, propiedades analgésicas y propiedades que inhiben edema inducido por carragenina en pata de rata.

Así mismo, Martin et. al. (2006) sostienen que las plantas pertenecientes al género *Eryngium* se caracterizan por su alto contenido de Saponinas, los cuales son responsables de la actividad biológica de estas especies. Las plantas también contienen flavonoides tales como Kaempferol y Quercetina glicosiladas. El culantro espinoso es fuertemente aromático y contiene aceites esenciales formados por cerca de cuarenta compuestos de alto valor para la industria farmacéutica, de perfumería y aditivos alimentarios.

El contenido relativamente alto de aceites esenciales o aromáticos en el cultivo está asociado a sus usos como condimento y planta medicinal. Generalmente se aprovechan las hojas y tallos para uso como condimento y toda la planta tiene usos medicinales. Culinariamente, el Sacha culantro es usado extensamente en la cocina del Caribe, Latinoamérica y Asia tropical, de forma similar al cilantrillo, en sofritos, salsas y pastas. Nutricionalmente, las hojas del Sacha culantro contienen un 90% de agua, pero tienen alta concentración de caroteno, calcio, hierro, vitamina B1 (tiamina), vitamina B2 (riboflavina), vitamina C, vitamina A y proteínas. Jimenez et. al. 2016.

En relación a *Copaifera paupera* es una especie de la Familia Fabaceae, descrita por primera vez por Theodor Carl Herzog en 1909 (Fedge 1909) y reevaluada por John Duncan Dwyer en 1951 (Missouri Botanical Garden 2016b). Esta especie presenta tres sinónimos: *Copaiba paupera* Herzog; *Copaifera langsdorffii* var. *peruviana* J.F. Macbr y *Copaifera reticulata* var. *peruviana* J.F. Macbr. Hay que tener mucha precaución con la identificación y diagnóstico de la especie, ya que parece que se utilizan sinónimos no reconocidos taxonómicamente (por ejemplo en Taylor 2016), pudiendo llevar a confusión. Según las colectas disponibles; esta especie se encuentra en Perú (Pasco y Oxapampa), Bolivia (Santa Cruz y Cochabamba) y Brasil (Maranhão), habiéndose recolectado entre los 275 y 680 metros (Figura XXX). Brako & Zarucchi (1993) nos indican que esta especie se distribuye también en los bosques de Loreto, Madre de Dios y Ucayali, entre los 0 y 500 metros de altitud.

Adzu et al. (2015) evaluaron la actividad gastroprotectora y el mecanismo de acción de estandarizado de extracto de hojas de infusión de *Copaifera malmei* Harms, donde se pudo impedir las ulceraciones agudas inducidas mediante la mejora de gastroprotección través de la producción gástrica de mucosa, reducción de la secreción gástrica y mejoras en el proceso de curación de las úlceras crónicas, como se mostró por la reducción/prevención del daño epitelial y vascular, además de la reducción en la infiltración de leucocitos.

El estudio realizado por Arroyo et al. (2011) demostró el efecto cicatrizante de *Copaifera officinalis* (copaiba) en pacientes con úlceras peptídicas, donde demostraron que se logró el 65% y 75% de cicatrización de la úlcera peptídica con Aceite de Copaiba, sin efectos adversos significativos. Carvalho et al. (2005) describe que la oleo-resina de varias especies de *Copaifera* son usadas ampliamente en la región amazónica principalmente como tópico antiinflamatorio y un agente de curación y evidenciaron que la oleo-resina de *Copaifera Duckei* contiene tópica antiinflamatoria y actividades analgésicas.

Tincusi et al. (2002) aislaron compuestos a partir de la oleo-resina de la planta medicinal peruana *Copaifera Paupera*, con el fin de evaluarlo como leishmanicida, antimicrobiano, citotóxico y actividad inhibitorias de la aldosa reductasa. Según sus resultados ciertos compuestos mostraron una actividad antimicrobiana significativa (MIC <10 µg/mL) contra las bacterias Gram-positivas. Así mismo un compuesto exhibió actividad citotóxica moderada contra cuatro líneas celulares del cáncer. Además, Cascon et al. (2000) al analizar la caracterización de la oleo-resina de la *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne, donde encontraron actividades como antihelmíntico, analgésico, gastro-protector, anti-tumoral y tripanocida por parte de la oleo-resina.

Rohloff et al. (2013) reportó que la oleoresina de *Copaifera paupera*, con mayor constituyente es el β-bisaboleno, contiene un efecto anti Leishmaniasis. Do Nascimento et al. (2012) al estudiar los compuestos volátiles dentro de la hoja, ramas, semillas y pericarpio, de 5 especímenes de *Copaifera langsdorffii*, indicaron la presencia de b-cariofileno, germacreno D, espatulenol, óxido de cariofileno e iso-espatulenol.

En este contexto, se evaluó los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de los extractos metanólicos, acetónicos de la hoja de Sacha Culantro y metanólicos y etanólicos del Aceite de Copaiba. Este estudio formó parte del proyecto “Evaluación de la Actividad Flebotónica de especies nativas amazónicas del Perú: Sacha Culantro (*Eryngium Foetidum* L.) y Copaiba (*Copaifera Paupera*), procedentes de la Provincia de Coronel Portillo (Ucayali)”, financiada por FONDECYT (Convenio 000151-2015).

2. Material y Métodos

2.1 Tipo de Estudio

El tipo de estudio realizado fue observacional de tipo no experimental, analítico y transversal.

2.2 Población de Estudio

Las muestras de sacha culantro (*Eryngium foetidum* L.) y la oleorresina de copaiba (*Copaifera paupera*), se recolectaron en la estación experimental agroforestal "A. von Humboldt" de INIA-Pucallpa, Provincia de Coronel Portillo-Ucayali, Perú, las que fueron recolectadas e identificadas por el Dr. Eloy Cuellar, Sub-Director del INIA-Pucallpa. Se trabajó con 20 kg de hojas de Sacha Culantro fresco y con 5 kg de la Oleoresina Copaiba.

2.3 Área de Estudio

Programa de Valorización de la Biodiversidad (FONDECYT-151-2015).

2.4 Diseño Estadístico

Los resultados de todas las pruebas se presentaron como la media de 3 determinaciones \pm desviación estándar (SD). Las diferencias entre las medias se determinaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis, la cual analiza muestras independientes. La correlación de variables se hizo mediante la prueba de Pearson. El análisis estadístico se corrió por el paquete estadístico SPSS 21.

2.5 Preparación de la Muestra

2.5.1 Para el Sacha Culantro

De la planta fresca se separaron las raíces y se lavaron las hojas. Después del oreado, se seleccionaron y se clasificaron las hojas, de acuerdo al tamaño, color, daño o magulladuras. En seguida se sometió a secado en estufa de aire forzado (40°C durante 72h), luego la muestra fue molida y almacenada en frascos de vidrio ámbar en refrigeración hasta su extracción.

2.5.2 Para el Aceite de Copaiba

La muestra fue recolectada en frasco de vidrio ámbar y almacenada en refrigeración hasta el día de realización de la extracción.

2.6 Diseño Experimental

2.6.1 Extracción de las muestras.

2.6.1.1 Extracción para el Sacha Culantro.

Se llevó a cabo de acuerdo a la técnica descrita por Reichel et al. (2011), adaptada para el Sacha Culantro, el cual se describe en el Anexo 1.

2.6.1.2 Extracción para el Aceite de Copaiba.

Se llevó a cabo de acuerdo a la técnica descrita por Vieira et al. (2012) con modificaciones para su uso en la obtención de los extractos metanólicos y etanólicos, para el Aceite de Copaiba, el cual se describe en el Anexo 2.

2.6.2 Purificación de las muestras

Los extractos metanólicos y acetónicos de Sacha Culantro, fueron sometidos al método de Purificación por SPE (Solid Phase Extraction), de acuerdo a la técnica descrita por Irakli et al. (2012), tal como se observa en el Anexo 3.

2.6.3 Pruebas fisicoquímicas utilizadas

2.6.3.1 Capacidad antioxidante FRAP

Técnica propuesta por Benzie y Strain (1996), descrita por Szollosi y Varga (2002). El procedimiento se llevó a cabo utilizando 1.0 mL de agua destilada y 1.0 mL del reactivo FRAP, los cuales se añadieron a la muestra de Sacha Culantro y de Aceite Copaiba (20 μ L). Luego se llevaron a baño María a 37 °C durante 15 minutos y se procedió a leer en el espectrofotómetro (593 nm). Con el propósito de calcular la capacidad antioxidante de las muestras, se preparó una curva estándar utilizando diversas concentraciones Fe^{2+} .

2.6.3.2 Flavonoides

Técnica descrita por Wolfe et al. (2003) para la determinación de Flavonoides, el medio de reacción estuvo constituido por 250 μ L de muestra, 125 μ L de agua y 75 μ L de nitrito de sodio al 5%. Se dejó reposar por 5 minutos y luego se adicionó 150 μ L de tricloruro de aluminio (solución al 10%). Se dejó reposar nuevamente por 6 minutos y por último se agregó 0.5 mL de hidróxido de sodio 2M y 275 μ L de agua. Se procedió a leer en el espectrofotómetro a 510 nm.

2.6.3.3 Polifenoles totales

Técnica propuesta por Singleton y Rossi (1965), descrita por Naczki y Shahidi (2006). Para la determinación de polifenoles se utilizó 1.0 mL de Folin – Ciocalteu (solución al 10%), 0.1 mL de la muestra y se dejó en reposo durante cinco minutos, a cuyo término se adicionó 1.0 mL de carbonato de sodio (solución al 7.5%). Luego, se llevaron a baño María por 15 minutos a 45 °C y se procedió a darles lectura en el espectrofotómetro a 725nm.

2.6.3.4 DPPH

Técnica propuesta por Brand-Williams et al. (1995), descrita por Szydłowska – Czerniak et al. (2011). Esta determinación se realizó utilizando distintas concentraciones de muestra las que fueron colocadas en tubos conteniendo 1 mL de tampón acetato pH 6.0 (0.1 M), 0.5mL metanol y 0.5 mL de DPPH (0.1 mM), se procedió a agitar fuertemente, se llevaron a baño maría a 37 °C durante 30 minutos a cuyo término se leyeron en el espectrofotómetro a 517 nm. Paralelamente se preparó un blanco que no contenía muestra ni el reactivo DPPH y para realizar los cálculos se utilizaron tubos de control que no contenían muestra.

2.6.3.5 Thiobarbutiric acid rective substances – (TBARS)

Técnica descrita por Draper y Hadley (1990) que evalúa el grado de lipoperoxidación midiendo la formación de malondialdehído (MDA) utilizando el reactivo ácido Tiobarbitúrico en presencia de ácido tricloroacético, el producto formado se midió en el espectrofotómetro a 532 nm.

2.6.4 Reactivos Químicos

El TPTZ (2, 4,6- Tris 2-Piridil- s- Triazina), se adquirieron de de la Sigma Chemical Co. El reactivo de Folin Ciocalteau, carbonato de sodio, cloruro férrico, Monofosfato, Difosfato, Ascorbato, Desoxiribosa, Cobre 2, Ácido Tiobarbitúrico, ácido acético, ácido ascórbico, ácido gálico, catequina, metanol, etanol, acetona, nitrito de sodio, cloruro de aluminio y ácido tricloroacético se adquirieron de la casa comercial Merck-Darmstadt y el sulfato ferroso de Scharlau. Todos los reactivos fueron de grado p.a.

2.6.5 Equipos

- Espectrofotómetro Spectroquant. Modelo Pharo 300.
- Balanza analítica digital Sartorius Extend, modelo ED224S.
- Balanza de precisión digital Sartorius Element, modlo ELT6000.
- Centrifuga Hettich Zentrifugen, Modelo Mikro 22R.
- Equipo baño maría Memmert de 14 L.
- Estufa MM GROUP, Modelo Venticell 55.
- Unidad Succionadora para preparación de muestras (SPE). Marca Lichrolut.
- Rotavapor, Marca Selecta, modelo RS 3000V.

3. Resultados

Los resultados de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante (FRAP, DPPH y TBARS) de extractos metanólico y acetónico de Sacha Culantro se muestran en la Tabla 1, los que se expresaron en base al residuo sólido purificado (RSP). Los extractos metanólicos y metonólicos mostraron diferencias significativas según la prueba de Kruskal-Wallis ($p < 0.05$)

El contenido de Polifenoles totales del extracto metanólico y acetónico fueron de 16.09 ± 0.52 y 25.6 ± 0.25 mg EAG/g RSP, respectivamente. El contenido de flavonoides del extracto metanólico y acetónico fueron de 3.58 ± 0.121 y 8.77 ± 0.28 mg Eq. Cat/g RSP, respectivamente.

Con respecto a la capacidad antioxidante, la prueba FRAP de los extractos metanólico y acetónico fueron de 44.63 ± 0.65 y 93.86 ± 3.37 $\mu\text{moles Fe}^{2+}/\text{g RSP}$, respectivamente. La prueba DPPH, expresada como EC50, de los Extractos metanólico y acetónico fueron de 0.8924 ± 0.0503 y 0.8723 ± 0.0030 $\mu\text{mol TEAC/g RSP}$, respectivamente. La prueba de TBARS de los extractos metanólico y acetónico fueron de $19,60 \pm 0,56$ y $23,48 \pm 1,41$ mg MDA/g de RSP, respectivamente.

Los resultados de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante (FRAP y TBARS) de extractos metanólico y etanólico del aceite de Copaiba se muestran en la Tabla 2, los que se expresaron en base al residuo purificado (RP). Los extractos metanólicos y etanólicos muestran diferencias significativas según la prueba de Kruskal-Wallis ($p < 0.05$)

El contenido de Polifenoles totales del extracto metanólico y etanólico fueron de 1.81 ± 0.26 y 0.49 ± 0.00 mg EAG/g RP, respectivamente. El contenido de Flavonoides del extracto metanólico y etanólico fueron de 3.31 ± 0.21 y $0.65 \pm 0,014$ mg Eq. Cat/g RP, respectivamente.

Con respecto a la capacidad Antioxidante, la prueba FRAP de los extractos metanólico y etanólico fueron de 2.76 ± 0.032 y 2.428 ± 0.084 $\mu\text{moles Fe}^{2+}/\text{g RP}$, respectivamente. La prueba de TBARS de los extractos metanólico y etanólico fueron de $11,83 \pm 0,21$ y $14,17 \pm 0,37$ mg MDA/g de RP, respectivamente.

Tabla 1: Compuestos Bioactivos y Capacidad Antioxidante de Extractos Acetónico y Metanólico de Sacha Culantro.

	Polifenoles Totales (mg EAG/g RSP)	Flavonoides (mg Eq. Cat/g RSP)	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE		
			FRAP (μ moles Fe ²⁺ /g RSP)	DPPH (μ mol TEAC/g RSP) EC ₅₀	TBARS (μ g MDA/g de RSP)
Extracto Metanólico	16.09±0.52 ^a	3.58±0.121 ^a	44.63±0.65 ^a	0.8924±0.0503 ^a	19,60±0,56 ^a
Extracto Acetónico	25.6±0.2 ^b	8.77±0,28 ^b	93.86±3.37 ^b	0.8723±0.0030 ^b	23,48±1,41 ^b

^{a,b} Letras diferentes dentro de la misma columna, significa que hay diferencias significativas (p>0.05). Los valores se expresan como la media ± desviación estándar.

Tabla 2: Compuestos Bioactivos y Capacidad Antioxidante de Extractos Acetónico y Etanólico de Aceite de Copaiba.

	Polifenoles Totales (mg EAG/g RP)	Flavonoides (mg Eq. Cat/g RP)	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE		
			FRAP (μ moles Fe ²⁺ /g RP)	DPPH (μ mol TEAC/g RP) EC ₅₀	TBARS (μ g MDA/g de RP)
Extracto Metanólico	1.81 \pm 0.26 ^a	3.31 \pm 0.21 ^a	2.76 \pm 0.032 ^a	ND	11,83 \pm 0,21 ^a
Extracto Etanólico	0.49 \pm 0.00 ^b	0.65 \pm 0,014 ^b	2.428 \pm 0.084 ^b	ND	14,17 \pm 0,37 ^b

^{a,b} Letras diferentes dentro de la misma columna, significa que hay diferencias significativas (p>0.05). Los valores se expresan como la media \pm desviación estándar.

En la relación FRAP/Polifenoles (Figura 1) el hallazgo más resaltante fue del extracto acetónico de la muestra seca purificada de la hoja de Sacha Culantro en la que se halló que por 25.6 mg EAG/g RSP se elevaban los valores FRAP en 93.86 $\mu\text{moles Fe}^{2+}/\text{g RSP}$. Con relación al extracto metanólico del RSP de la hoja de Sacha Culantro se halló que por 16.09 mg EAG/g RSP se elevaban los valores FRAP en 44.63 $\mu\text{moles Fe}^{2+}/\text{g RSP}$. La correlación FRAP/Polifenoles presenta una alta significancia, demostrándose de esta manera que a mayor concentración de polifenoles totales los valores FRAP van en aumento, existiendo una relación directa ($r^2=0.991$).

En la relación FRAP/Flavonoides (Figura 2) el hallazgo más resaltante fue del extracto acetónico del RSP de la hoja de Sacha Culantro en la que se halló que por 8.77 mg Eq. Cat/g RSP se elevaban los valores FRAP en 93.86 $\mu\text{moles Fe}^{2+}/\text{g RSP}$. Con relación al extracto metanólico del RSP de la hoja de Sacha Culantro se halló que por 3.58 mg Eq. Cat/g se elevaban los valores FRAP en 44.63 $\mu\text{moles Fe}^{2+}/\text{g RSP}$. La correlación FRAP/Flavonoides totales presenta una alta significancia demostrándose de esta manera que a mayor concentración de Flavonoides los valores FRAP van en aumento, existiendo una relación directa ($r^2=0.999$).

En la relación DPPH/Polifenoles (Figura 3) se encontró que el extracto acetónico del RSP de la hoja de Sacha Culantro, cada 25.6 mg EAG/g RSP contribuyeron con los valores DPPH en 0.8723 $\mu\text{mol TEAC}/\text{g RSP}$. Con relación al extracto metanólico del RSP de la hoja de Sacha Culantro se halló que por 16.09 mg EAG/g RSP se elevaban los valores DPPH en 0.8924 $\mu\text{mol TEAC}/\text{g RSP}$. La relación DPPH/Polifenoles totales presenta una baja significancia no existiendo así una relación directa ($r^2=0.313$).

En la relación DPPH/Flavonoides (Figura 4) se encontró que el extracto acetónico del RSP de la hoja de Sacha Culantro, cada 8.77 mg Eq. Cat/g muestra seca contribuyeron con los valores FRAP en 0.8723 $\mu\text{mol TEAC}/\text{g RSP}$. Con relación al extracto metanólico de la RSP purificada de la hoja de Sacha Culantro se halló que por 3.58 mg Eq. Cat/g se elevaban los valores DPPH en 0.8924 $\mu\text{mol TEAC}/\text{g RSP}$. En la relación DPPH totales presenta una baja significancia no existiendo así una relación directa ($r^2=0.385$).

En la relación TBARS/Polifenoles (Figura 5) el hallazgo más resaltante fue del extracto acetónico del RSP de la Hoja de Sacha Culantro en la que se halló que por 25.6 mg EAG/g RSP se elevaban los valores TBARS en 23,48 $\mu\text{g MDA}/\text{g de RSP}$. Con relación al extracto metanólico de la RSP de la hoja de Sacha

Culantro se halló que por 16.09 mg EAG/g RSP se elevaban los valores TBARS en 19,60 μg MDA/g de RSP. La relación TBARS/Polifenoles totales presenta una alta significancia demostrándose de esta manera que a mayor concentración de polifenoles totales, los valores TBARS van en aumento, existiendo una relación directa ($r^2=0.922$).

Con respecto a la relación TBARS/Flavonoides (Figura 6) el hallazgo más resaltante fue del extracto acetónico del RSP de la hoja de Sacha Culantro en la que se halló que por 8.77 mg Eq. Cat/g RSP se elevaban los valores TBARS en 23,48 μg MDA/g de RSP. Con relación al extracto metanólico del RSP de la hoja de Sacha Culantro se halló que por 3.58 mg Eq. Cat/g se elevaban los valores TBARS en 19,60 μg MDA/g de RSP. La relación TBARS/Flavonoides totales presenta una alta significancia demostrándose de esta manera que a mayor concentración de flavonoides, los valores TBARS van en aumento, existiendo una relación directa ($r^2=0.906$).

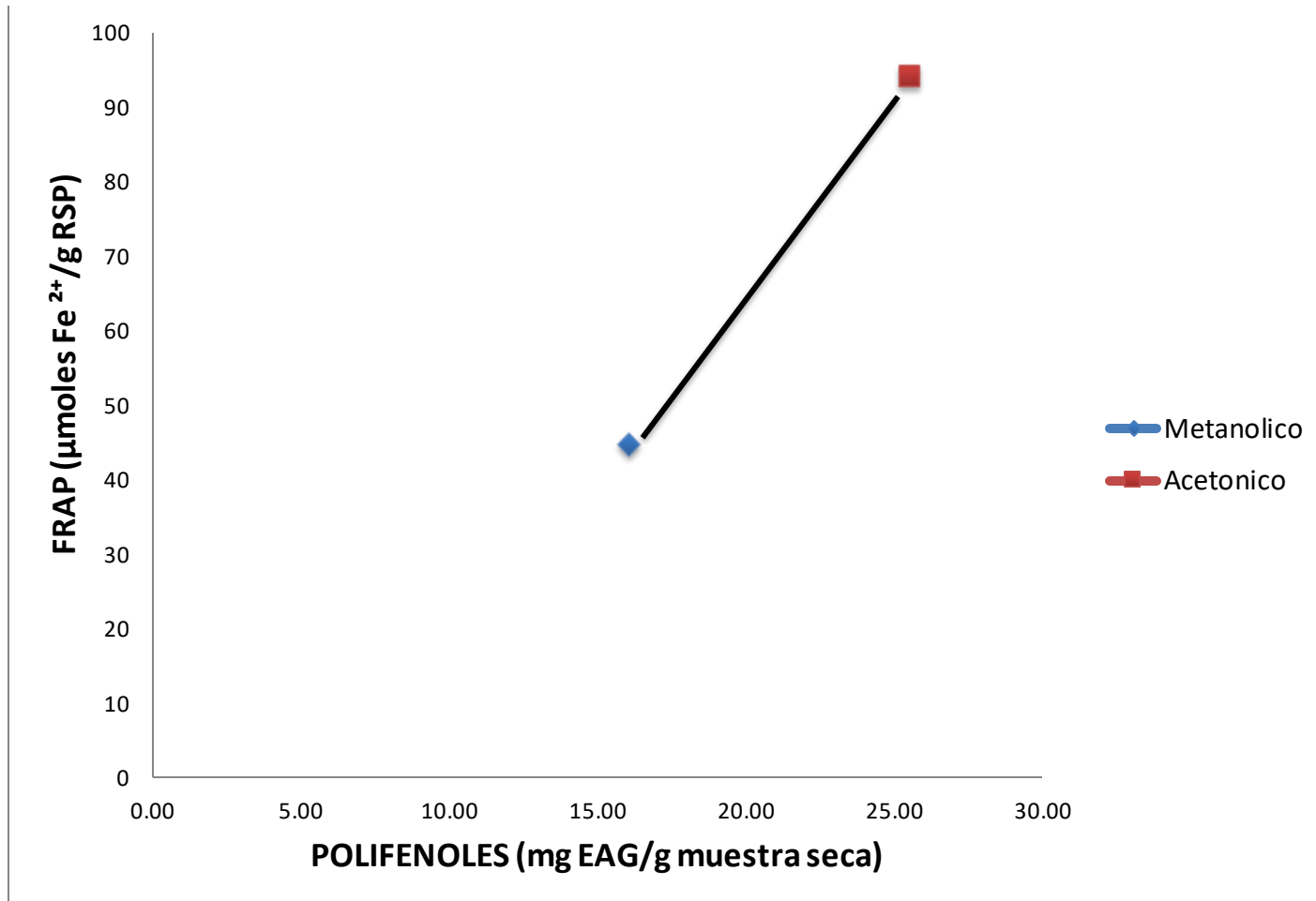


Figura 1.- Capacidad Antioxidante utilizando la técnica FRAP. Relación FRAP/Polifenoles totales de los Extractos Metanólicos y Acetónicos de la muestra seca purificada de la Hoja de Sacha Culantro. ($r^2 = 0.991$). La correlación es significativa al nivel 0.01.

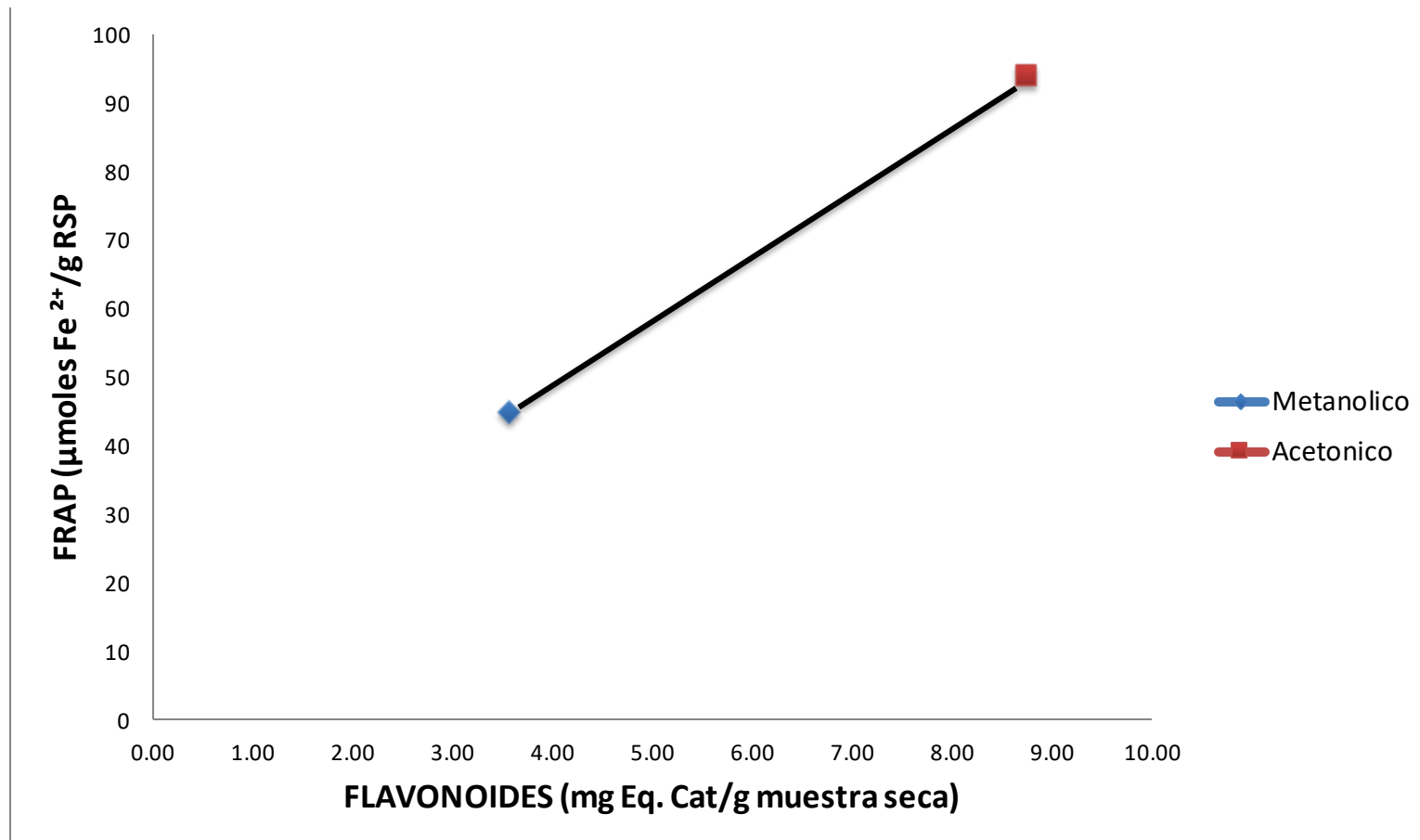


Figura 2.- Capacidad Antioxidante utilizando la técnica FRAP. Relación FRAP/Flavonoides de los Extractos Metanólicos y Acetónicos de la muestra seca purificada de la Hoja de Sacha Culantro. ($r^2 = 0.999$). La correlación es significativa al nivel 0.01.

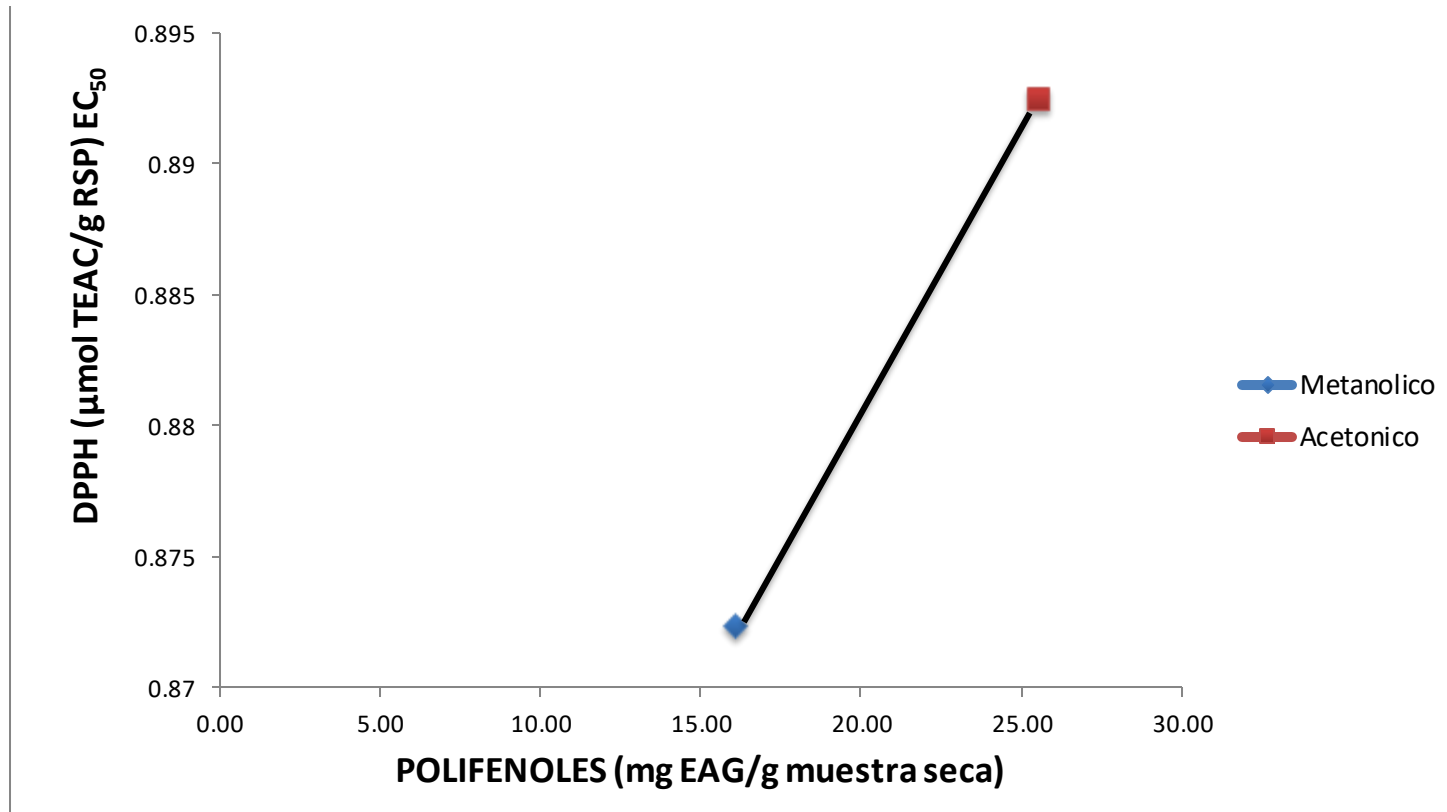


Figura 3.- Capacidad Antioxidante utilizando la técnica DPPH. Relación DPPH/Polifenoles totales de los Extractos Metanólicos y Acetónicos de la muestra seca purificada de la Hoja de Sacha Culantro. ($r^2=0.313$). La correlación es significativa al nivel 0.01.

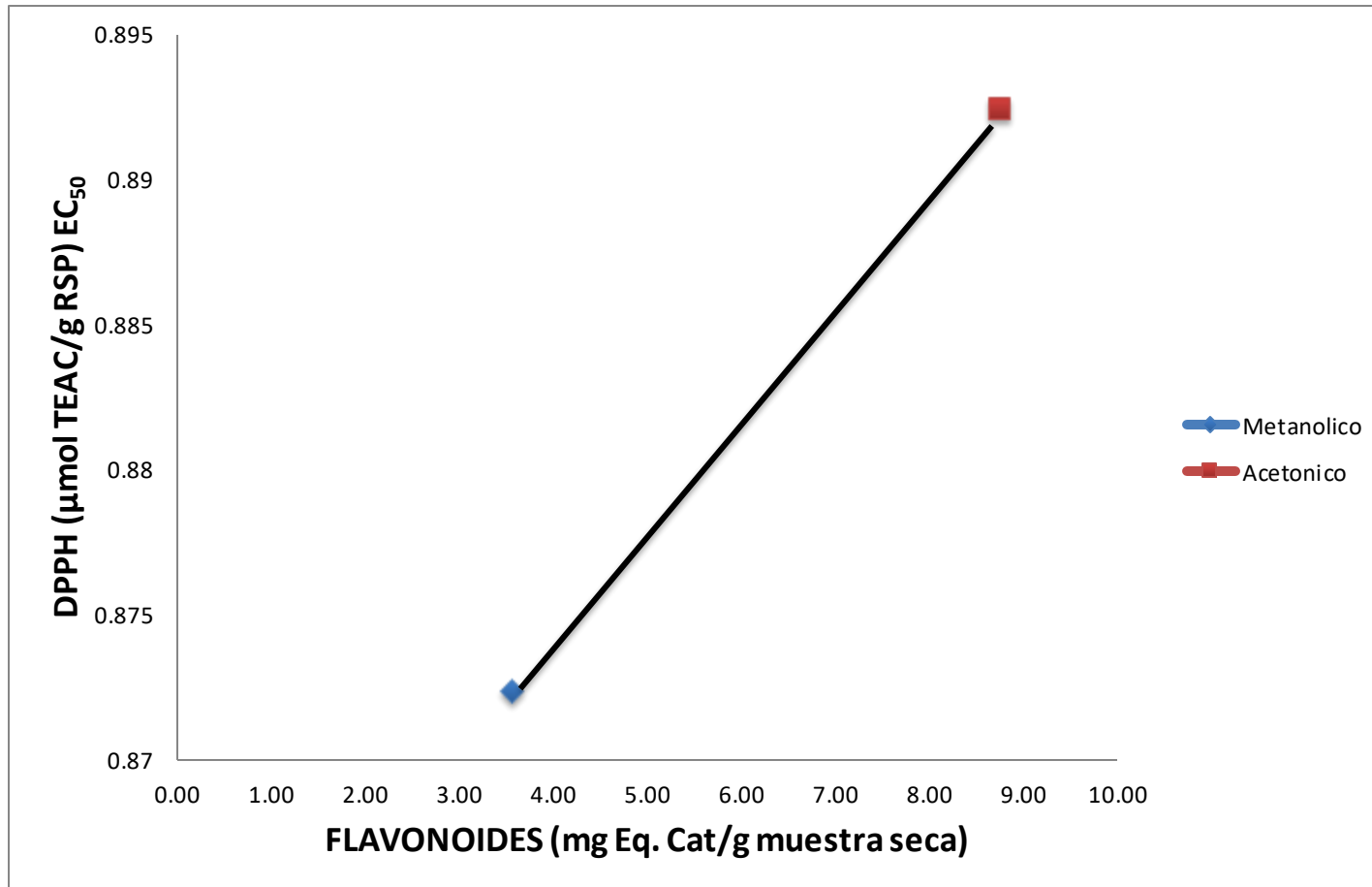


Figura 4.- Capacidad Antioxidante utilizando la técnica DPPH. Relación DPPH/Flavonoides de los Extractos Metanólicos y Acetónicos de la muestra seca purificada de la Hoja de Sacha Culantro. ($r^2=0.385$). La correlación es significativa al nivel 0.01.

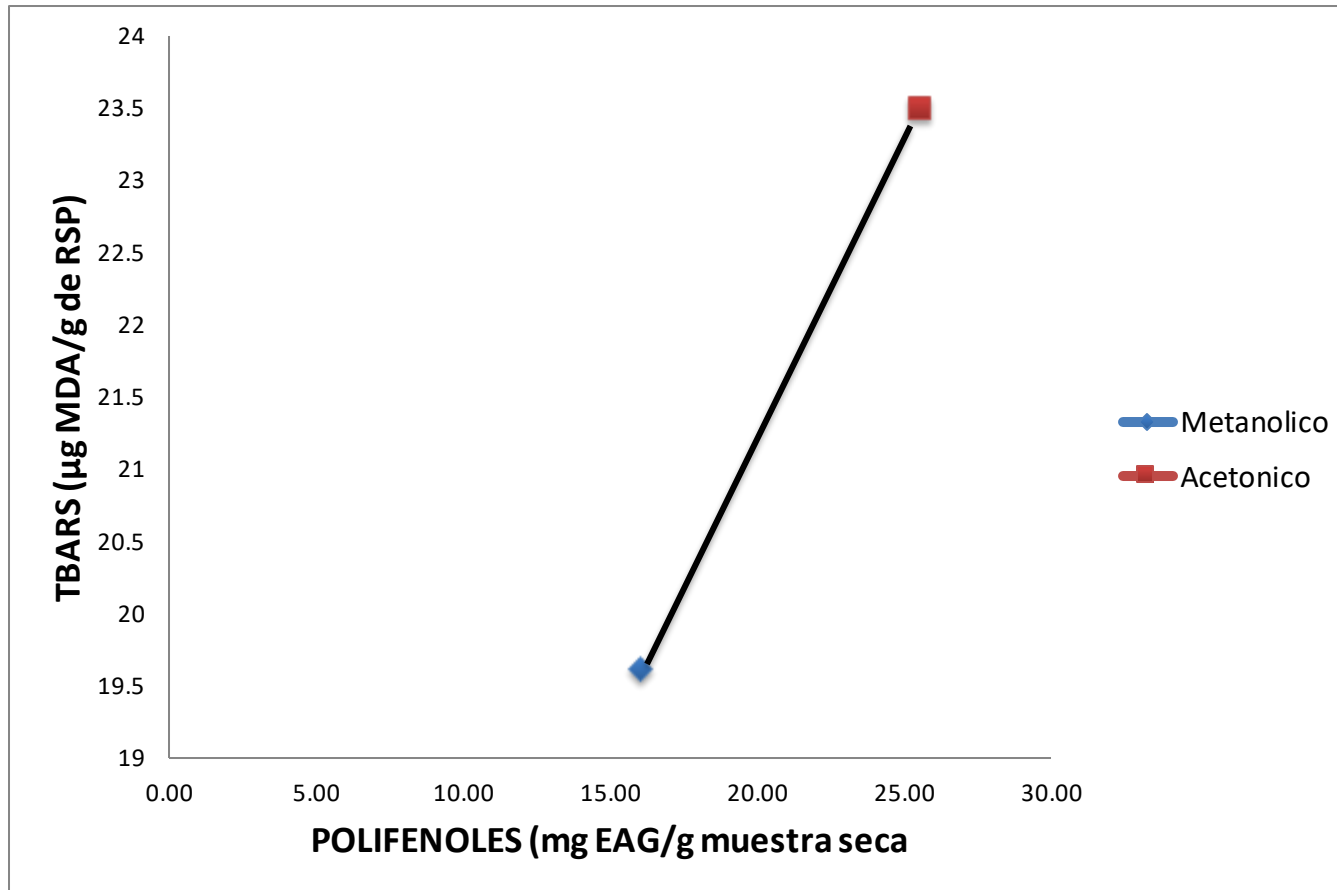


Figura 5.- Capacidad Antioxidante utilizando la técnica TBARS. Relación TBARS/Polifenoles totales de los Extractos Metanólicos y Acetónicos de la muestra seca purificada de la Hoja de Sacha Culantro. ($r^2 = 0.922$). La correlación es significativa al nivel 0.01.

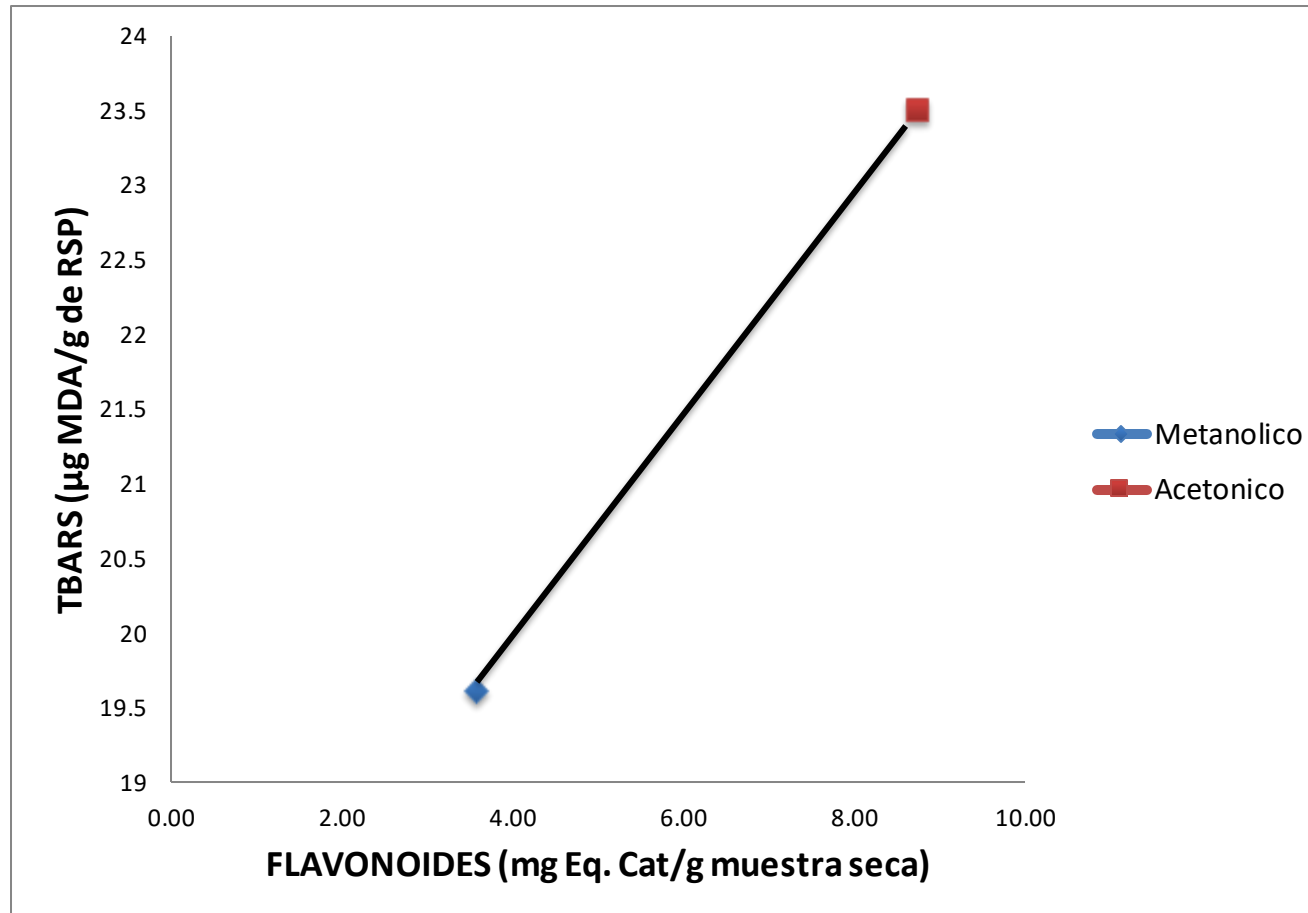


Figura 6.- Capacidad Antioxidante utilizando la técnica TBARS. Relación TBARS/flavonoides de los Extractos Metanólicos y Acetónicos de la muestra seca purificada de la Hoja de Sacha Culantro. ($r^2 = 0.906$). La correlación es significativa al nivel 0.01.

En la relación FRAP/Polifenoles (Figura 7) el hallazgo más resaltante fue del extracto metanólico del Aceite de Copaiba se halló que por 1.81 mg EAG/g de RP se elevaban los valores FRAP en 2.76 $\mu\text{moles Fe}^{2+}/\text{g RP}$. Con relación al extracto etanólico del Aceite de Copaiba se halló que por 0.49 mg EAG/g de RP se elevaban los valores FRAP en 2.428 $\mu\text{moles Fe}^{2+}/\text{g RP}$. La relación FRAP/Polifenoles totales presenta una alta significancia demostrándose de esta manera que a mayor concentración de polifenoles totales, los valores FRAP van en aumento, existiendo una relación directa ($r^2=0.941$).

En la relación FRAP/Flavonoides (Figura 8) el hallazgo más resaltante fue del extracto metanólico del Aceite de Copaiba se halló que por 3.31 mg Eq. Cat/g de RP se elevaban los valores FRAP en 2.76 $\mu\text{moles Fe}^{2+}/\text{g RP}$. Con relación al extracto etanólico del Aceite de Copaiba se halló que por 0.65 mg Eq. Cat/g de RP se elevaban los valores FRAP en 2.428 $\mu\text{moles Fe}^{2+}/\text{g RP}$. La relación FRAP/Flavonoides totales presenta una alta significancia demostrándose de esta manera que, a mayor concentración de flavonoides, los valores FRAP van en aumento, existiendo una relación directa ($r^2=0.940$).

En la relación TBARS/Polifenoles (Figura 9), el hallazgo más resaltante fue del extracto etanólico del Aceite de Copaiba se halló que por 0.49 mg EAG/g de RP se elevaban los valores TBARS en 14,17 $\mu\text{g MDA}/\text{g de RP}$. Con relación al extracto metanólico de la muestra del Aceite de Copaiba se halló que por 1.81 mg EAG/g RP se elevaban los valores TBARS en 11,83 $\mu\text{g MDA}/\text{g RP}$. La relación TBARS/Polifenoles totales presenta alta significancia ($r^2=0.962$).

En la relación TBARS/Flavonoides (Figura 10) el hallazgo más resaltante fue del extracto etanólico del Aceite de Copaiba se halló que por 0.65 mg Eq. Cat/g RP se elevaban los valores TBARS en 14,17 $\mu\text{g MDA}/\text{g de muestra}$. Con relación al extracto metanólico del Aceite de Copaiba se halló que por 3.31 mg Eq. Cat/g RP se elevaban los valores TBARS en 11,83 $\mu\text{g MDA}/\text{g RP}$. La relación TBARS/Flavonoides presenta alta significancia ($r^2=0.980$).

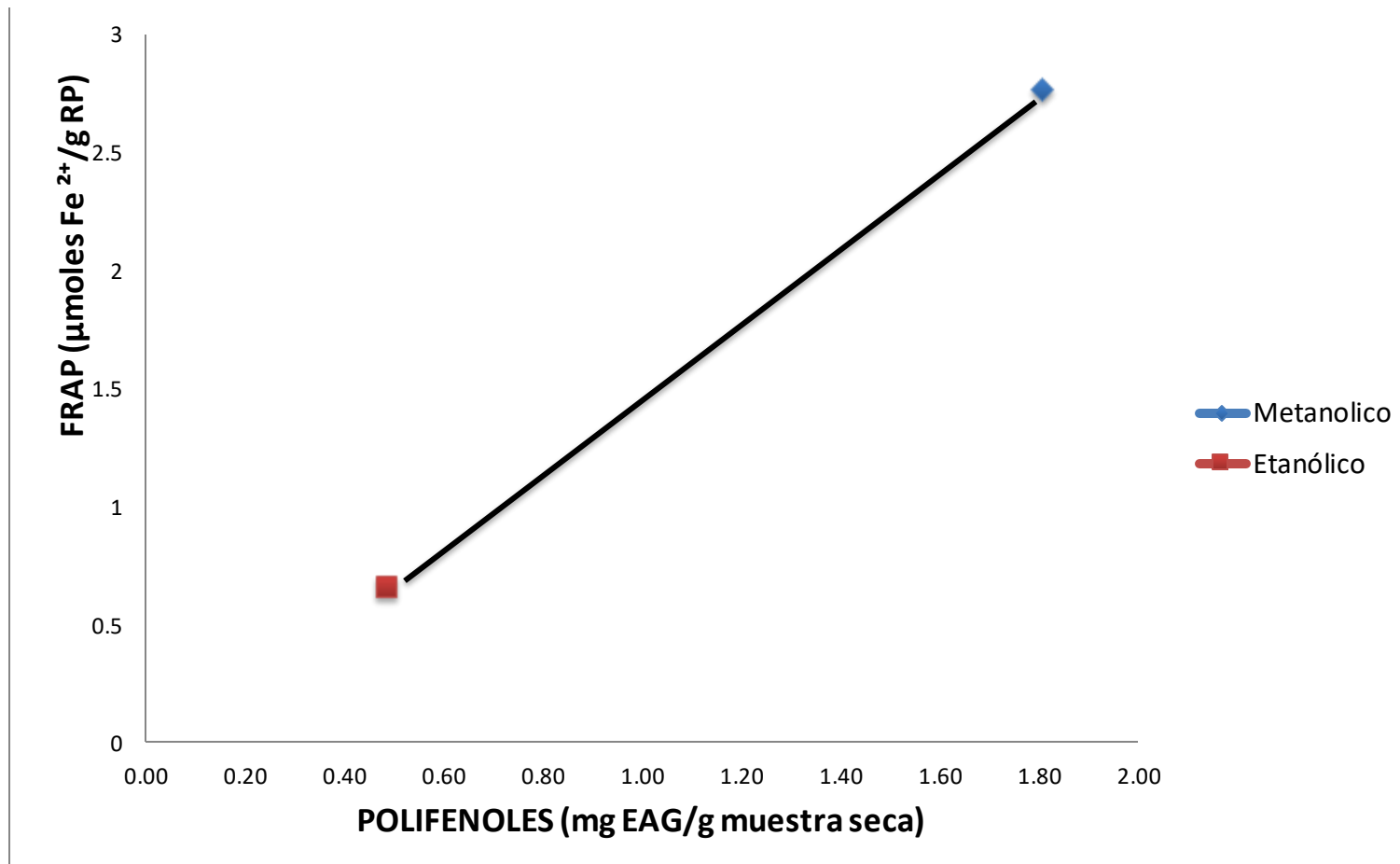


Figura 7.- Capacidad Antioxidante utilizando la técnica FRAP. Relación FRAP/Polifenoles totales de los Extractos Metanólicos y Etanólicos de la muestra seca purificada del Aceite de Copaiba. ($r^2 = 0.941$). La correlación es significativa al nivel 0.01.

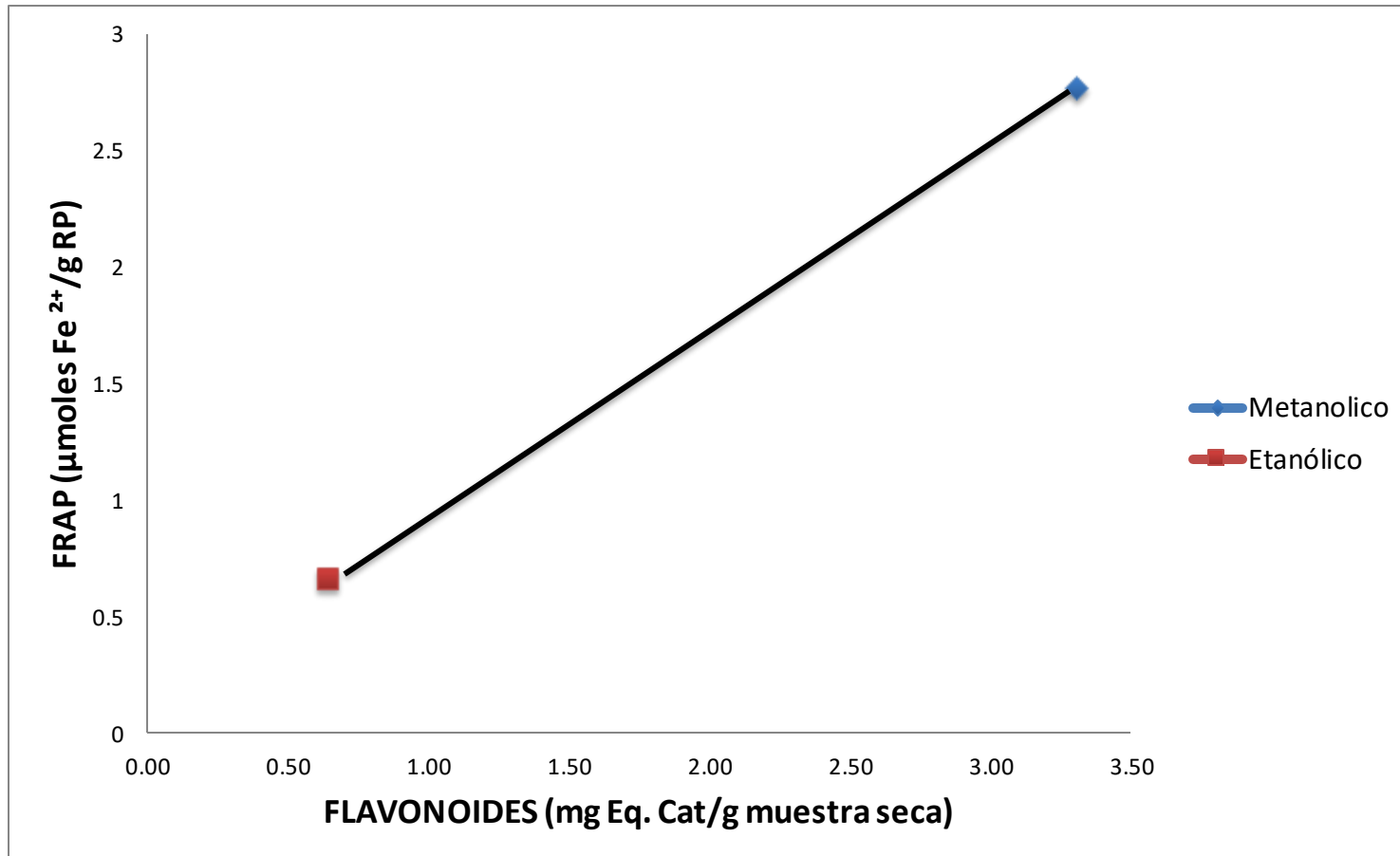


Figura 8.- Capacidad Antioxidante utilizando la técnica FRAP. Relación FRAP/Flavonoides de los Extractos Metanólicos y Etanólicos de la muestra seca purificada del Aceite de Copaiba. ($r^2 = 0.940$). La correlación es significativa al nivel 0.01.

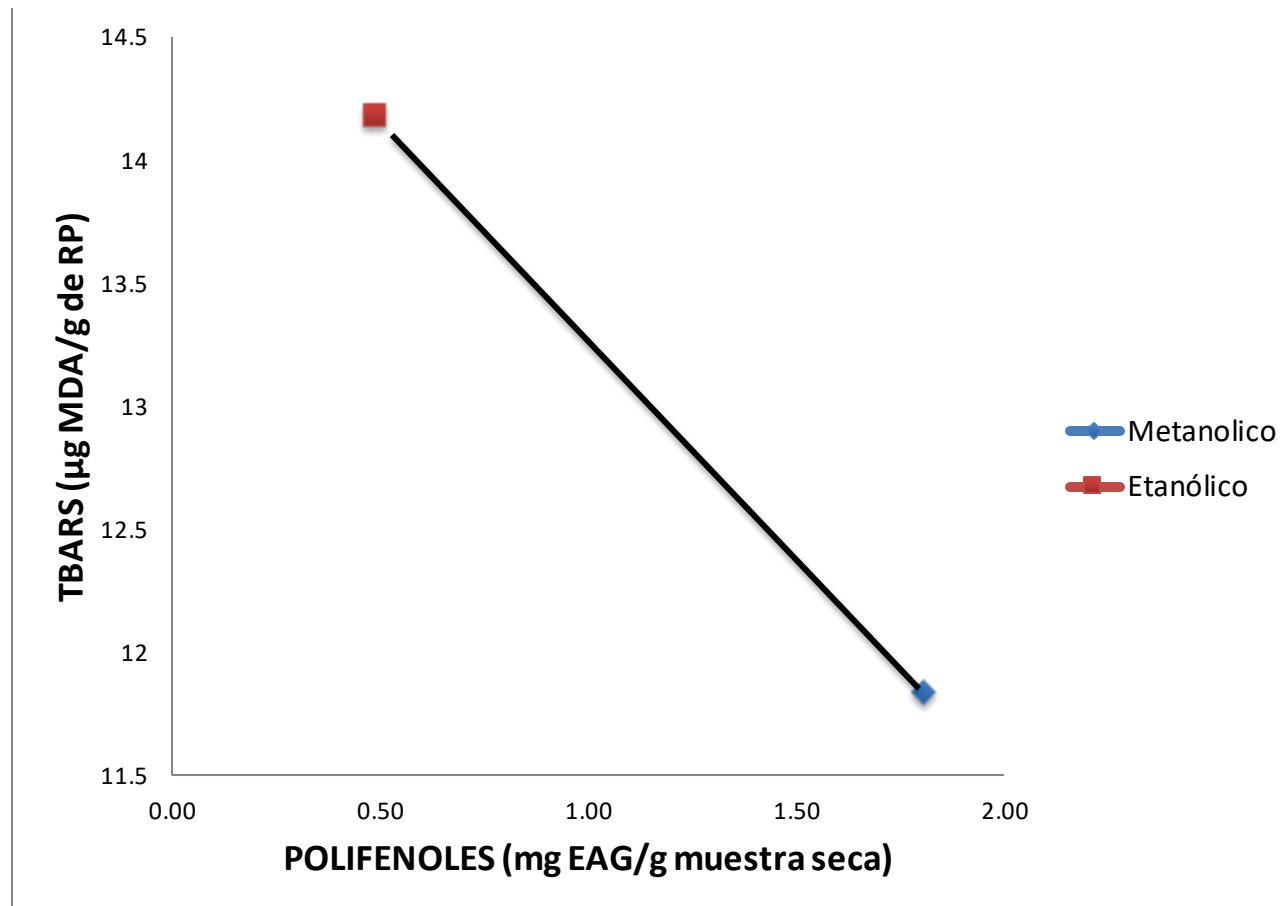


Figura 9.- Capacidad Antioxidante utilizando la técnica TBARS. Relación TBARS/Polifenoles totales de los Extractos Metanólicos y Etanólicos de la muestra seca purificada del Aceite de Copaiba. ($r^2 = 0.962$). La correlación es significativa al nivel 0.01.

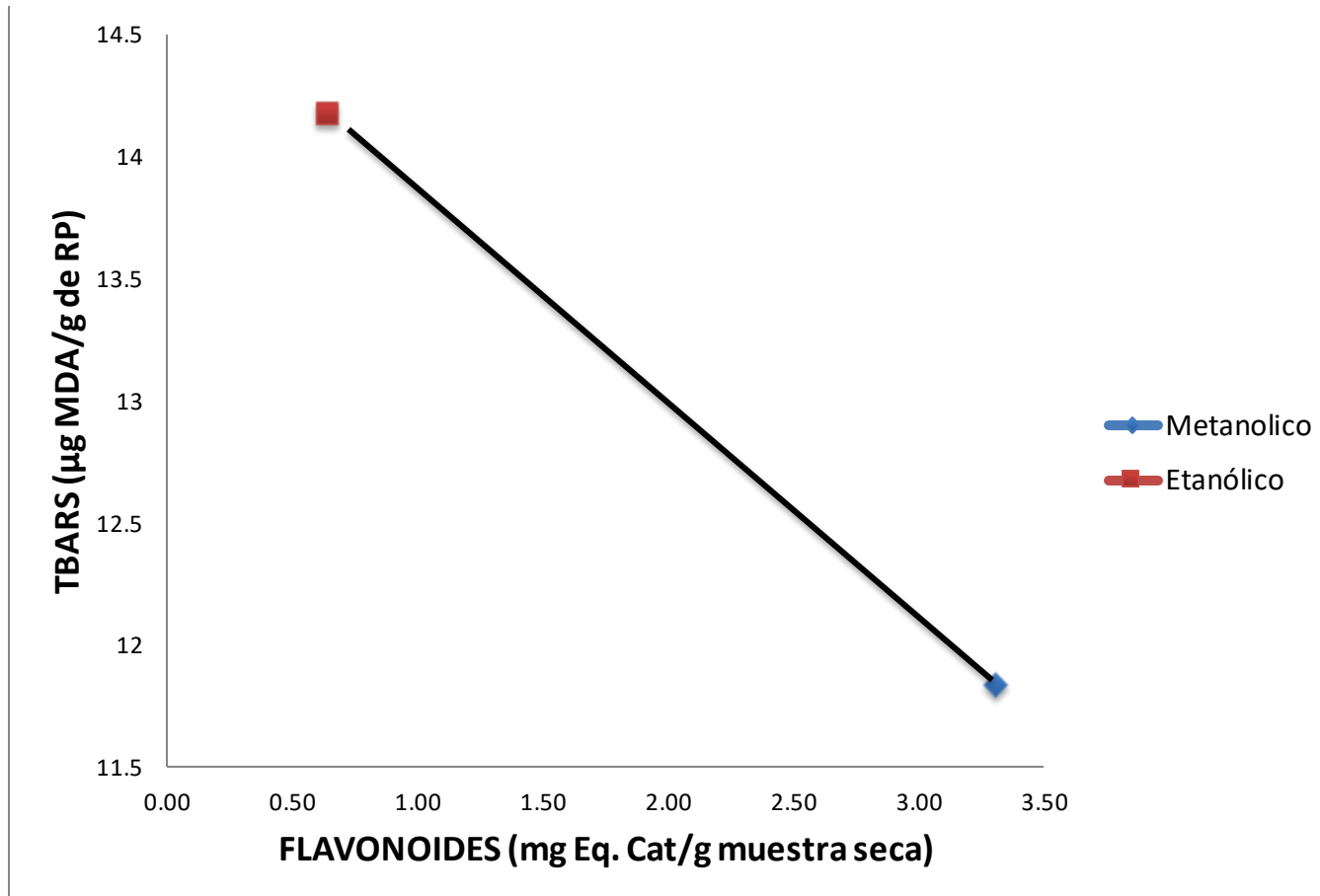


Figura 10.- Capacidad Antioxidante utilizando la técnica TBARS. Relación TBARS/flavonoides de los Extractos Metanólicos y Etanólicos de la muestra seca purificada del Aceite de Copaiba. ($r^2 = 0.980$). La correlación es significativa al nivel 0.01.

4. Discusión de Resultados

Sacha Culantro (*Eryngium Foetidum* L.)

El presente trabajo determinó el contenido de los compuestos bioactivos y de la capacidad antioxidante de la hoja de Sacha Culantro (*Eryngium foetidum* L.). Con tal propósito se han utilizado tres técnicas destinadas a cuantificar la actividad antioxidante: DPPH, FRAP y TBARS; así mismo, se han determinado los contenidos de Flavonoides y Polifenoles, metabolitos que en gran parte son los responsables de las propiedades antioxidantes de muchos alimentos.

Raunelli et al (2019), usando los resultados reportados en el presente estudio, concluyó que los extractos de la hoja de Sacha Culantro (*Eryngium foetidum* L.) no produce mortalidad o respuesta de comportamiento anormal en su población de estudio, con una dosis letal 50 (LD-50) >5000mg/kg. Además, al estudiar la genotoxicidad inducida, se demostró que la hoja de Sacha Culantro (*Eryngium foetidum* L.) puede mitigar la citotoxicidad del NaF reduciendo el daño que produce en el ADN celular.

Polifenoles Totales

El contenido de Polifenoles totales varió entre los diferentes tipos de extracción de la hoja de Sacha Culantro. El contenido de Polifenoles totales se determinó por la técnica de Folin-Ciocalteu, el cuál varió entre 16.09 y 25.6 mg EAG/g RSP para los extractos metanólico y acetónico respectivamente. Singh et al (2013) reportaron contenidos de Polifenoles totales de hojas de Sacha Culantro, valores de 2.237 y 2.332 mg EAG/g RSP de extracto metanólico y acetónico respectivamente, siendo menores a los resultados obtenidos en la presente investigación, toda vez que se trataron de extractos sin haber sido sometidos a purificación por SPE. Así mismo se puede observar un orden descendiente de eficacia de los solventes usados para la extracción de polifenoles, es decir, el extracto acetónico prevalece sobre el extracto metanólico, tanto en el trabajo de Singh et al; así como en el presente estudio ejecutado. Garg et al (2012) reportaron el contenido de Polifenoles totales de las hojas de la especie *Corandium sativam* (familia apiaceae), valores de 1.67 mg EAG/g de extracto metanólico, siendo menores a los resultados obtenidos en el proyecto ejecutado.

Sin embargo, Vukic et al (2018), reportaron valores de 311.11 mg EAG/g de extracto metanólico para la especie *Eryngium serbicum* L., planta oriunda de Serbia, distribuida principalmente en Eurasia; siendo mayores a los resultados

obtenidos en la presente investigación. Harsha y Anilakumar (2012), obtuvieron valores de polifenoles totales en hoja de culantro (*Coriandrum sativum*), especie recolectada en Mysore, India, de 133.74 mg EAG/g, siendo mayores a los resultados obtenidos durante la presente investigación, quienes secaron las hojas a la sombra durante 3 días, hasta un contenido de humedad de 7%, donde la muestra fue remojada durante toda la noche en etanol al 70% para su extracción.

Por otro lado, Singh et al (2013) sostuvieron que los extractos acuosos de las hojas de Sacha culantro muestran alta extracción de compuestos polifenólicos, lo que determina su potencial como alimento funcional, por lo que es consumido predominantemente como ensaladas y encurtidos. En la selva peruana, las hojas de Sacha Culantro, se usan predominantemente para la preparación de sudado de pescado y diferentes tipos de sopas.

Flavonoides

El contenido de flavonoides varió entre los diferentes tipos de extracción de la hoja de Sacha Culantro. El contenido de flavonoides se determinó por la técnica descrita por Wolfe et al. (2003), el cuál varió entre 3.58 y 8.77 mg Eq. Cat/g RSP para los extractos metanólico y acetónico respectivamente.

Garg et al (2012) reportaron el contenido de flavonoides de las hojas de la especie *Corandium sativam* (familia apiaceae), valores de de 1 mg Eq. Cat/g, estos valores tienen similitud con el estudio obtenido por Yanza (2014), donde los valores de flavonoides en culantro (*Corandium sativum*) fueron de 805 µg Eq. Cat/g. El menor rendimiento de sus extractos, pudo ser debido a que los extractos fueron preparados usando el aparato Soxhlet a diferencia que en este estudio usamos el SPE.

Singh et al (2013) reportaron contenidos de flavonoides de hojas de Sacha Culantro, valores de 1.746 y 1.803 mg Eq. Rut/g. de extracto metanólico y acetónico respectivamente, siendo menores a los resultados obtenidos en la presente investigación, toda vez que se trataron de extractos sin haber sido sometidos a purificación por SPE y su equivalente son expresado en mg de eq. Rutina/g y los resultados del presente estudio son expresados en mg de eq. Catequina/g. Así mismo se puede observar un orden descendiente de eficacia de los solventes usados para la extracción de flavonoides, es decir, el extracto acetónico prevalece sobre el extracto metanólico, tanto en el trabajo de Singh et al (2013); así como en el presente estudio ejecutado.

Sin embargo, Vukic et al (2018), reportaron valores de 154.98 mg Eq. Cat/g de extracto metanólico para la especie *Eryngium serbicum* L., planta oriunda de Serbia, distribuida principalmente en Eurasia; siendo mayores a los resultados obtenidos en la presente investigación.

FRAP

La Capacidad Antioxidante FRAP varió entre los diferentes tipos de extracción de la hoja de Sacha Culantro, siendo más elevada en la extracción acetónica que en la metanólica con un contenido de 93.86 ± 3.37 y 44.63 ± 0.65 $\mu\text{moles Fe}^{2+}/\text{g RSP}$, respectivamente.

Este método se basa en la capacidad de la muestra para reducir los iones Fe^{+3} a Fe^{+2} en presencia del reactivo TPTZ. No existen estudios que muestren la determinación de la actividad FRAP en la hoja de Sacha Culantro (*Eryngium foetidum* L.) ni plantas similares; sin embargo, Sreeramulu et al (2010) muestran que la relación FRAP/Polifenoles Totales muestran una significativa correlación lineal en diversos vegetales ($r^2=0.87$), similares resultados obtenidos en nuestro estudio en la relación FRAP/Polifenoles Totales que mostramos en la Figura 1 y la relación FRAP/Flavonoides que mostramos en la figura 2 de la hoja de Sacha Culantro con ($r^2=0.991$) y ($r^2=0.999$) respectivamente, fundamentalmente reportando mayor reducción de iones Fe^{+3} en los extractos acetónicos tanto como para polifenoles como para flavonoides.

DPPH

Para la evaluación de la inhibición del radical DPPH de los diferentes tipos de extracción de la hoja de Sacha Culantro, se obtuvo como referencia la concentración efectiva al 50% (EC50), cuyos resultados son 0.8924 ± 0.0503 y 0.8723 ± 0.0030 $\mu\text{mol TEAC/g RSP}$ para la extracción metanólica y acetónica, respectivamente.

Ceballos y Giraldo (2015), determinaron la actividad antioxidante por la técnica del catión ABTS⁺, y reportaron que en el extracto de las hojas es mayor que en el extracto de tallos de cilantro (*Coriaundum sativum* L.), cuyas concentraciones son de 0.6345 ± 0.0511 y 0.2155 ± 0.0280 $\mu\text{mol TEAC/g}$ respectivamente, obteniendo así resultados notoriamente menores a los nuestros.

Sin embargo, Jaramillo et al. (2011), determinaron la actividad antioxidante en el aceite esencial de las hojas de *E. foetidum*, expresada como porcentaje de

inhibición del radical DPPH en 89,39%. Así mismo, Rodríguez (2014), evaluó la actividad antioxidante del aceite esencial de *Eryngium foetidum* L. “siuca culantro”, obteniendo una inhibición del radical DPPH expresado en porcentaje de captación de 70% equivalente a 150mg de TEAC/mL de muestra. Toda vez que fue expresado en porcentaje de inhibición según concentración del extracto; en el presente estudio se obtuvo como referencia la concentración efectiva al 50% (EC50).

No se reportaron estudios que relacionen el contenido de Polifenoles totales ni flavonoides con el porcentaje inhibitorio del radical DPPH, sin embargo, en los trabajos de Rodríguez (2014) y Jaramillo et. al. (2011), reportaron que hubo una reducción significativa en el radical DPPH al igual que en nuestro estudio, los que se muestran en la figura 3 y 4, que a mayor cantidad de Polifenoles totales y Flavonoides la inhibición del radical DPPH es mayor, fundamentalmente en el extracto acetónico.

TBARS

Para la determinación de TBARS se midió la inhibición del MDA formado en el control, por medio del cual los extractos metanólico y etanólico inhibieron la formación de la lipoperoxidación, haciendo efectivo los resultados que se expresaron como mg MDA/g de muestra seca purificada.

La Capacidad Antioxidante TBARS varió entre los diferentes tipos de extracción de la hoja de Sacha Culantro, siendo más elevada en la extracción acetónica que en la metanólica con un contenido de 23.48 ± 1.41 y 19.60 ± 0.56 $\mu\text{g MDA/g RSP}$, respectivamente.

No existen estudios que muestren la Capacidad antioxidante TBARS en la hoja de Sacha Culantro (*Eryngium foetidum* L.); sin embargo, Sreelata et. al. (2009) evaluaron la capacidad antioxidante TBARS en hígado de rata inducidas con extractos de hoja de *Coriandrum sativum*, obteniendo resultados de 1,46 y 1,29 nmol MDA/ mg de proteína a dosis de 100 y 200mg/kg, respectivamente, y con extractos del tallo de *Coriandrum sativum*, obteniendo resultados de 1,52 y 1,43 nmol MDA/ mg de proteína a dosis de 100 y 200mg/kg, respectivamente. Estos resultados indicaron que los radicales libres, de ser liberado en el hígado, fueron neutralizados con eficacia cuando se tratan con la hoja y tallo extractos de *C. sativum*. Así mismo, Moudache et. al. (2016) determinaron la capacidad antioxidante TBARS en carne fresca de cerdo que fue protegida con diferentes extractos de hoja de olivo, obteniendo valores finales de 0.19 $\mu\text{g de MDA Kg}^{-1}$, los cuales indicaban una notoria disminución en la lipoperoxidación de la carne.

No se reportaron estudios que relacionen el contenido de Polifenoles Totales ni flavonoides con la capacidad antioxidante TBARS, sin embargo, en el presente estudio se pudo determinar que mientras mayor es el contenido de Polifenoles y Flavonoides en la hoja de en la hoja de Sacha Culantro (*Eryngium foetidum L*) mayor es la formación de MDA, indicando que los extractos de sachá culantro no son los adecuados para evitar la lipoperoxidación.

Aceite de Copaiba (*Copaifera paupera*)

El presente trabajo determinó el contenido de los compuestos bioactivos y de la capacidad antioxidante del Aceite de Copaiba (*Copaifera paupera*). Con tal propósito se han utilizado tres técnicas destinadas a cuantificar la actividad antioxidante: DPPH, FRAP y TBARS; así mismo, se han determinado los contenidos de Flavonoides y Polifenoles, metabolitos que en gran parte son los responsables de las propiedades antioxidantes de muchos alimentos.

Liviac et al (2019), usando los resultados reportados en el presente estudio, concluyeron que la oleorresina del Aceite de Copaiba (*Copaifera paupera*) pudo mitigar la citotoxicidad de la Cyclophosphamide que produce daño en el DNA. Siendo así el primer reporte publicado de la antigenotoxicidad de la Copaiba (*Copaifera paupera*).

Polifenoles Totales

El contenido de Polifenoles totales varió entre los diferentes tipos de extracción del Aceite de Copaiba. El contenido de Polifenoles totales se determinó por la técnica de Folin-Ciocalteu, el cuál varió entre 1.81 ± 0.26 y 0.49 ± 0.00 mg EAG/g de RP para los extractos metanólico y etanólico, respectivamente.

No existen estudios que muestren el contenido de Polifenoles totales del ceite de Copaiba, sin embargo, Batista et. al. (2016), cuantificaron el contenido de Polifenoles totales de la pulpa de Copaiba (*Copaifera langsdorffii fruit*) en 0.03 y 0.125 mg EAG/g de muestra seca para los extractos metanólicos y etanólicos respectivamente, siendo menores que nuestros resultados, toda vez que evaluó la pulpa del fruto de copaiba.

Muñoz Sisniegas (2005) determinó el contenido de Polifenoles totales de hojas y cortezas de *Copaifera Paupera*, encontrando así 0.1455 ± 0.002 mg EAG/g de muestra seca para los extractos metanólico de las Hojas y 0.046 ± 0.004 mg EAG/g de muestra seca para los extractos metanólico de la corteza de la *Copaifera*

Paupera; siendo menores a los resultados obtenidos en nuestra investigación en hojas de Aceite de Copaiba (*Copaifera Paupera*).

Flavonoides

El contenido de Flavonoides varió entre los diferentes tipos de extracción del Aceite de Copaiba (*Copaifera Paupera*). El contenido de flavonoides se determinó por la técnica descrita por Wolfe et al. (2003), el cuál varió entre 3.31 ± 0.21 y 0.65 ± 0.14 mg Eq. Cat/g RP para los extractos metanólico y etanólico respectivamente.

No existen estudios que muestren el contenido de flavonoides del Aceite de Copaiba, sin embargo, Batista et. al. (2016) estudió el contenido de Flavonoides de la pulpa de Copaiba (*Copaifera langsdorffii fruit*) encontrando así 0.01 y 0.5 mg mg Eq. Cat/g de muestra seca para los extractos metanólicos y etanólicos respectivamente, siendo menores que nuestros resultados, toda vez que evaluó la pulpa del fruto de copaiba.

FRAP

La capacidad antioxidante FRAP varió entre los diferentes tipos de extracción del Aceite de Copaiba (*Copaifera Paupera*), siendo más elevada en la extracción Metanólica que en la Etanólica con un contenido de 2.76 ± 0.032 y 2.428 ± 0.084 $\mu\text{moles Fe}^{2+}/\text{g RP}$, respectivamente.

No existen estudios que muestren la determinación de la actividad FRAP en el Aceite de Copaiba; sin embargo, Batista et. al. (2016) estudiaron la capacidad antioxidante FRAP de la pulpa de Copaiba (*Copaifera langsdorffii fruit*) encontrando así 0.8 y 0.6 $\mu\text{moles Fe}^{2+}/\text{g}$ de muestra seca para los extractos metanólicos y etanólicos respectivamente, siendo menores que nuestros resultados, toda vez que evaluó la pulpa del fruto de copaiba. Así mismo, en las figuras 7 y 8 se pueden observar claramente la correlación positiva entre el contenido de Polifenoles totales y Flavonoides frente a la capacidad antioxidante FRAP, indicando que ambas contribuyen con su poder reductor frente al Fe^{+3} .

DPPH

Para la evaluación de la inhibición del radical DPPH de los diferentes tipos de extracción del Aceite de Copaiba (*Copaifera Paupera*), se obtuvo como referencia la concentración efectiva al 50% (EC50), sin embargo, no se detectó inhibición del radical en ninguno de los extractos evaluados.

TBARS

La lipoperoxidación es un mecanismo general por medio del cual los radicales libres pueden inducir el daño al tejido y han sido implicados en muchas condiciones patológicas, el cual se midió por los niveles de TBARS. Para la determinación de TBARS se midió la inhibición del MDA formado en el control, por medio del cual los extractos metanólico y etanólico inhibieron la formación de la lipoperoxidación, haciendo efectivo los resultados que se expresaron como mg MDA/g de muestra seca purificada.

La capacidad antioxidante TBARS varió entre los diferentes tipos de extracción del Aceite de Copaiba (*Copaifera Paupera*), siendo más elevada en la extracción etanólica que en la metanólica con un contenido de 14.17 ± 11.83 y 11.83 ± 0.21 μg MDA/g RP, respectivamente. Baldissera et. al. (2014) aplicaron diferentes dosis de aceite de tres variedades de Copaiba, entre ellas *Copaifera Paupera* a ratones de experimentación, los que fueron analizados en 3 tratamientos, para evaluar el efecto protector contra la lipoperoxidación. Los resultados indicaron que no existen diferencias significativas entre el grupo control y los grupos sometidos a dosis de los tres tipos de copaiba. Más aún, encontraron daño hepatotóxico y nefrotóxico en todos los tratamientos.

Por otro lado, no se reportaron estudios que relacionen el contenido de Polifenoles totales ni Flavonoides con la capacidad antioxidante TBARS, sin embargo, se puede observar en las Figuras 9 y 10, tanto para el extracto etanólico como para el metanólico, el efecto citoprotector aumenta con el contenido de Polifenoles totales y Flavonoides, ya que hay menor formación de MDA.

5. Conclusiones y Recomendaciones

- 5.1 Se encontró cantidades significativas en el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de los extractos metanólicos, acetónicas de la hoja de Sacha Culantro y metanólicos y etanólicas del Aceite de Copaiba.
- 5.2 Existen diferencias significativas entre el contenido de Polifenoles, Flavonoides, FRAP, DPPH y TBARS de los extractos metanólico y acetónico de la hoja de Sacha Culantro.
- 5.3 Existen diferencias significativas entre el contenido de Polifenoles, Flavonoides, FRAP y TBARS de los extractos metaólico y etanólico del Aceite de Copaiba.
- 5.4 El extracto acetónico de la hoja de Sacha Culantro presentó el mayor contenido de compuestos bioactivos como los Polifenoles totales y Flavonoides.
- 5.5 El extracto metanólico del aceite de Copaiba presentó el mayor contenido de compuestos bioactivos como los Polifenoles totales y Flavonoides.
- 5.6 El sachaculanthro mostró una buena actividad antioxidante FRAP y DPPH pero pobre acción en la reducción de MDA.
- 5.7 El aceite de copaiba mostró una buena actividad antioxidante FRAP y buena reducción de MDA, pero no se detectó su capacidad inhibidora del radical DPPH.
- 5.8 Se recomienda evaluar el uso de Sachaculanthro como suplemento nutricional, teniendo en cuenta las técnicas de cocción y las preparaciones a elaborar, por su alto contenido de Polifenoles, Flavonoides y capacidad antioxidante FRAP y DPPH demostrada.
- 5.9 Se recomienda evaluar la acción del extracto de hojas de Sachaculanthro como inhibidor de la lipoperoxidación en comidas con altos contenidos de grasa debido a su poca acción frente a la formación de MDA.

- 5.10 Se recomienda el uso de Sacha Culantro como alimento de uso Nutrigenómico por su gran protección al daño inducido al ADN celular.

- 5.11 Se recomienda el uso del Aceite de copaiba como alimento de uso Nutrigenómico por su gran protección al daño inducido al ADN celular.

6. Referencias Bibliográficas

- 1) Adzu, B.; Balogun, S.O.; Pavan, E.; Ascêncio, S.D.; MendesSoares, I.; Souza Aguiar, R.; Ribeiro, R.V.; Silva Beserra, A.; Oliveira, R.; Silva, L.; Damazo, A.; Oliveira Martins, D. 2015. Evaluation of the safety, gastroprotective activity and mechanism of action of standardized leaves infusion extract of *Copaifera malmei* Harms. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol 175: 378-389 pp.
- 2) Aleksandra Szydłowska-Czerniak; Iwona Bartkowiak-Broda; Igor Karlovic; Gyorgy Karlovits; Edward Szłyk. 2011. Antioxidant capacity, total phenolics, glucosinolates and colour parameters of rapeseed cultivars. *Food Chemistry* 127: 556-563pp.
- 3) Arroyo, J.; Quino, M.; Martínez, J.; Almora, Y.; Alba, A.; Condorhuamán, M. 2011. Efecto Cicatrizante del Aceite del *Copaifera officinalis*, en pacientes con Úlcera péptica. <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/991>.
- 4) Batista, A.; Ferrari, A.; Da Cunha, D.; Da Silva, J.; Betim, C.; Correa, L.; Prado, M.; Carvalho-Silva, L.; Esteves, E.; Maròstica, M. 2016. Polyphenols, antioxidants, and antimutagenic effects of *Copaifera langsdorffii* fruit. *Food Chemistry*. Vol 197: 1153-1159 pp.
- 5) Baldissera, M.; Oliveira, C.; Tonin, A.; Wolkmer, P.; Lopes, S.; Fighera, R.; Flores, M.; Oliveira, E.; Santos, R.; Boligon, A.; Athayde, M.; Monteiro, S.; Silva, A. 2014. Toxic effect of essential oils (*Copaifera* spp) in the treatment of mice experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. *Biomedicine & Preventive Nutrition*. Vol 4: 319-324 pp.
- 6) Brako L, Zarucchi JL (1993) Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Perú. Missouri Botanical Garden, Saint Louis, Missouri.
- 7) Calvino, C.I., Martínez, S.G., Downie, S.R., 2007. The evolutionary history of *Eryngium* (Apiaceae, Saniculoideae): rapid radiations, long distance dispersals, and hybridizations. *Mol. Phylogenet. Evol.* 46, 1129–1150.
- 8) Carvalho, J.; Cascon, V.; Possebon, L.; Morimoto, M.; Cardoso, L.; Kaplan, M.; Gilbert, B. 2005. Topical Antiinflammatory and Analgesic Activities of *Copaifera Duckei* Dwyer. *Phytotherapy Research*. Vol 19: 946-950pp.
- 9) Cascon, V.; Gilbert, B.; 2000. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayn. *Phytochemistry*. Vol 55: 773-778pp.

- 10) Ceballos, A.; Giraldo, G. 2015. El Cilantro (*Coriandrum sativum* L.) como fuente potencial de antioxidantes naturales. Vector. Vol 6: 85-93 pp.
- 11) Chua, L.; 2013. A review on plant-based rutin extraction methods and its pharmacological activities. Journal of Ethnopharmacology. Vol 150: 805-817pp.
- 12) Dewanto, Veronica; Wu, X.;Adom, K.;Liu, Rui Hai. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. J.Agric.Food Chem. Vol.50 (10): 3010 – 3014p.
- 13) Do Nascimento, M.E.; Bichara Zoghbi, M. D.; Pinto, P.; Vilela Bertolucci, S.K. 2012. Chemical variability of the volatiles of *Copaifera langsdorffii* growing wild in the Southeastern part of Brazil Journal Biochemical Systematics and Ecology. Vol 43: 1-6 pp.
- 14) Draper HH and Hadley M. Malondialdehyde determination as an index of lipid peroxidación Methods Enzymol 1990; 186: 421-431.
- 15) Flores, P. 1997. Cultivos de Frutales Nativos Amazónicos. TCA- Tratado de Cooperación Amazónica-secretaría Pro-Tempore. 307 pág.
- 16) Fedge F (1909) Repertorium specierum novarum regni vegetabilis. Selbstverlag des Herausgebers, Berlin
- 17) García, M.; Sáenz, M.; Gómez, M.; Fernandez, M.; Topical Antiinflammatory Activity of Phytosterols Isolated from *Eryngium Foetidum* on Chronic and Acute Inflammation Models. 1999. Phytotherapy Research. Vol 13: 78-80 pp.
- 18) Garg D. Muleya, Khare N., Marar T. 2012. Comparative analysis of phytochemical profile and antioxidant activity of some indian culinary. Herbs.Rev. R.J.P.B.C.S. 2012, 3(3): 845-853.
- 19) Harsha. S.; Anilakumar. K.; Effects of *Coriandrum Sativum* extract on exploratory behaviour pattern and locomotor activity in mice: an Experimental Study. 2012. International Journal of Green Pharmacy.
- 20) Jaramillo, B.; Duarte, E.; Martelo, I. 2011. Volatile chemical composition of the essential oil from colombian *Eryngium foetidum* L. and determination of its antioxidant activity. Revista Cubana de Plantas Medicinales. Vol 16: 140-150 pp.
- 21) Jimenez, J.; Iman. A.; 2016. Tesis; Actividad Antioxidante y Antibacteriana in vitro de las hojas de Culantro y Sacha Culantro frente a dos bacterias. Escuela de formación profesional de Bromatología y Nutrición Huamana de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.
- 22) Lima, C. S.; Medeiros, B.; Favacho, H.; Dos Santos, K.; De Oliveira, B.; Taglialegna, J.; Da Costa, E.; Campos, K.; Carvalho, J.; 2011. Pre-Clinical validation of a vaginal cream containing copaiba oil (reproductive toxicology study). Phytomedicine. Vol 18: 1013-1023 pp.

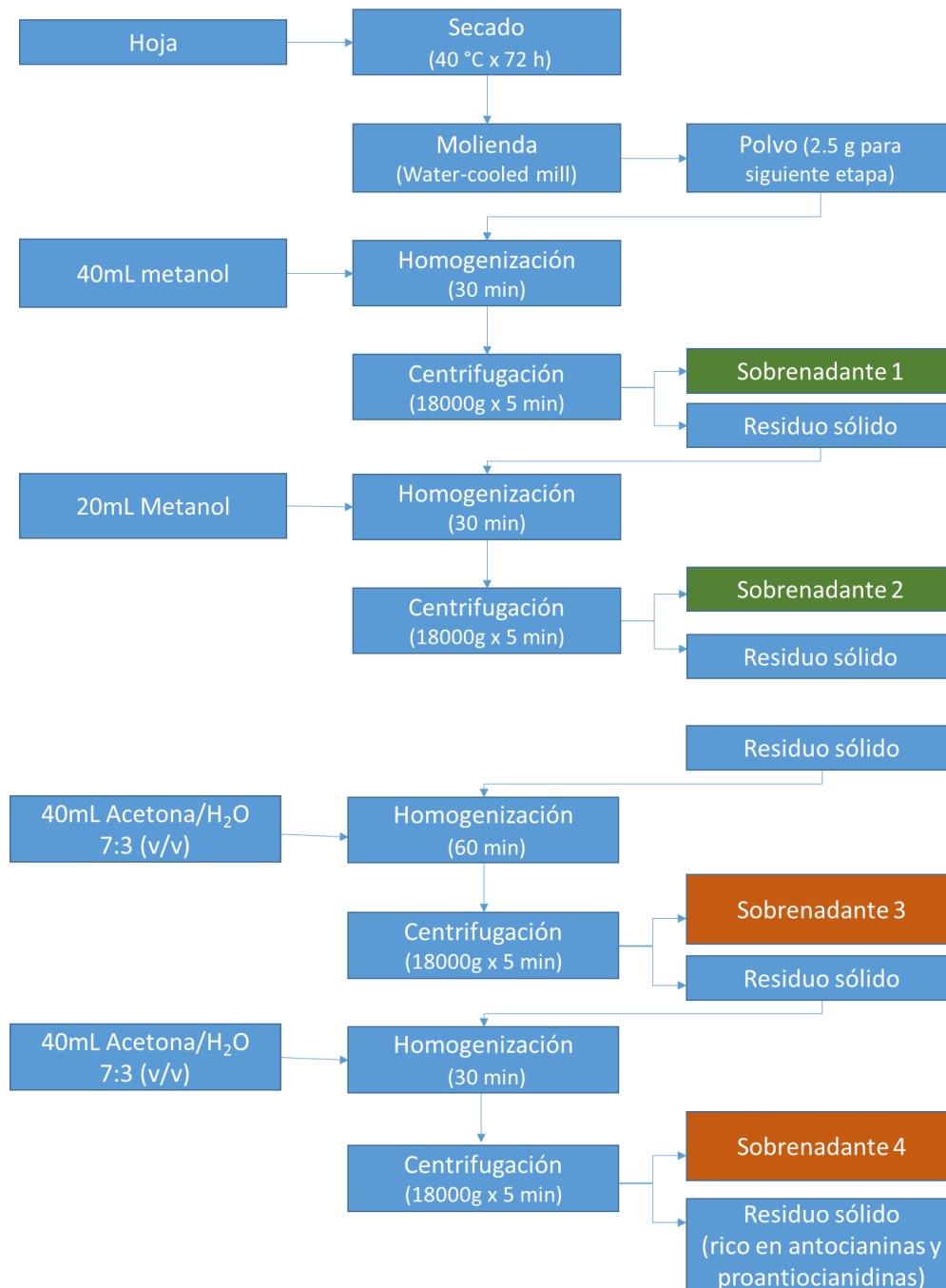
- 23) Liviac, D.; Raunelli, P.; Alvis, R.; Puente, S.; Reategui, O. 2019. Phytochemical Analysis, in vitro Antioxidant Capacity and Toxicity Assessment of *Copaifera paupera* Oleoresin. *Journal Pharmacogn.* Vol 11(2): 374-378 pp.
- 24) Martin, K. 2006. Organogenesis on Root, Leaf, Stem-Disc, and Scape Explants of *Eryngium Foetidum* L., a Rare Medicinal Plant. *Journal of Herbs, spices & medicinal plants.* Vol 11: 4 pp.
- 25) Martins, N.; Barros, L.; Santos-Buelga, C.; Ferreira, I. 2016. Antioxidant potential of two Apiaceae plant extracts: A comparative study focused on the phenolic composition. *Industrial Crops & Products.* Vol 79: 188-194 pp.
- 26) Milena, D; 2018. Phytochemical analysis, antioxidant, antibacterial and cytotoxic activity of different plant organs of *Eryngium serbicum* L. *Industrial Crops & Products.* Vol 115: 88-97 pp.
- 27) Missouri Botanical Garden (2016b) Name Publication Detail: *Copaifera paupera*.
<http://www.tropicos.org/NamePublicationDetail.aspx?nameid=13008410>.
 Accessed 27 May 2016
- 28) Moudache, M.; Nerin, C.; Colon, M.; Zaidi, F. 2017. Antioxidant effect of an innovative active plastic film containing olive leaves extract on fresh pork meat and its evaluation by Raman spectroscopy. *Food Chemistry.* Vol 229: 98-103pp.
- 29) Muñoz Sisniegas J. [Tesis de Pregrado] Capacidad Antioxidante en seis especies nativas de la selva peruana, Perú 2005.
- 30) Odone, G; Valadeau, C; Alban-castillo, J.; Stien, D.; Sauvain, M.; Bourdy, G. 2013. Medical ethnobotany of the Chayahuita of the Paranapura basin (Peruvian Amazon). *Journal of Ethnopharmacology.* Vol.146: 127-153pp.
- 31) Ozgen, M; Reese, R.N.; Tulio Jr.,A.Z.; Scheerens, J.C.; Miller, R. 2006. Modified 2,2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid (ABTS) Method to Measure Antioxidant Capacity of Selected Small Fruits and Comparison to Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and 2,2 ϕ -Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Methods. *J. Agric. Food Chem.* 54(4):1151-1157p.
- 32) Paul, J.H.A.; Seaforth, C.E.; Tikasing, H. T. 2011. *Eryngium foetidum* L.: A review. *Journal Fitoterapia.* Vol.82: 302-308 pp.
- 33) Promkum, Ch.; Butryee, Ch.; Tuntipopipat, S.; Kupradinun, P. 2012. Anticlastogenic Effect of *Eryngium foetidum* L. Assessed by Erythrocyte Micronucleus Assay. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* Vol 13: 3343-3347 pp.

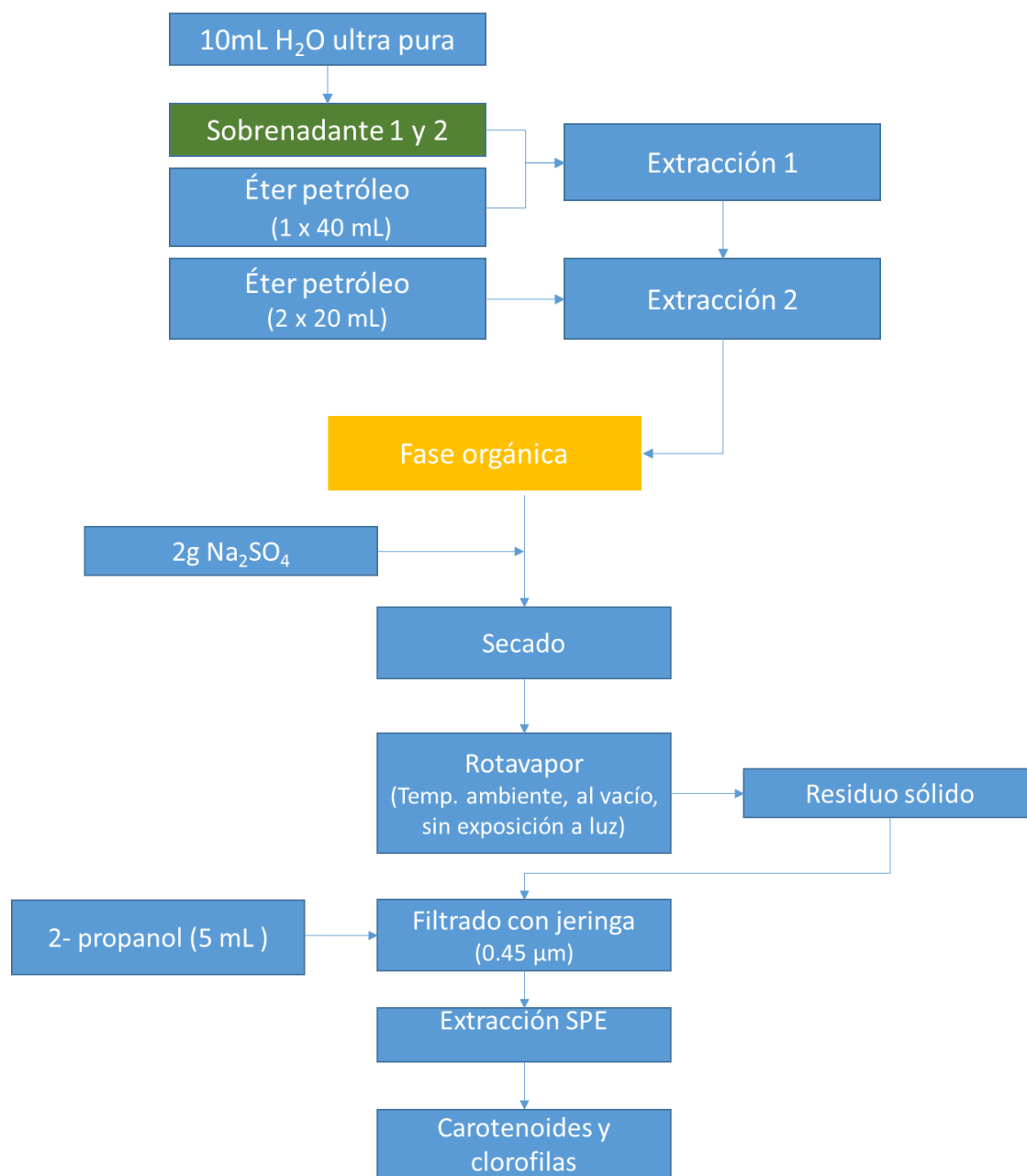
- 34) Raunelli, P.; Liviac, D.; Alvis, R.; Puente, S.; Reategui, O. 2019. Cytoprotective Effect of the *Eryngium foetidum* "Sacha Culantro" Methanolic Leaf Extract Versus Sodium Fluoride Exposed Mice using the Micronucleus Test and the Comet Assay. *Journal Pharmacogn.* Vol 11:1pp.
- 35) Reichel, M.; Carle, R.; Sruamsiri, P.; Neidhart, S. 2011. Changes in Flavonoids and Nonphenolic Pigments during On-Tree Maturation and Postharvest Pericarp Browning of Litchi (*Litchi chinesis* Sonn.) As Shown by HPLC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* Vol.59: 3924-3939 pp.
- 36) Rodriguez, J. 2014. Estructura Química y Actividad Antioxidante *in vitro* del Aceite Esencial de *Eryngium foetidum* L. "Siuca culantro". Tesis para el Grado Académico de Magister en Ciencia de los Alimentos. Unidad Nacional Mayor de San Marcos.
- 37) Rohloff, J.; Hymete, A.; Tariku, Y.; 2013. Plant-Derived Natural Products for the Treatment of Leishmaniasis. *Studies in Natural Products Chemistry*, Vol. 39. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-62615-8.00011-4>
- 38) Roumy, V.; García-Pizango, G.; Gutierrez-Choquevilca, L.; Ruiz, L.; Jullian, V.; Winterton, P.; Fabre, N.; Moulis, C.; Valentin, A. 2007. Amazonian plants from Peru used by Quechua and Mestizo to treat malaria with evaluation of their activity. *Journal of Ethnopharmacology.* Vol. 112: 482-489 pp.
- 39) Ruiz, L.; Ruiz, L.; Maco, L.; Cobos, M.; Gutierrez-Choquevilca, A.; Roumy, V.; 2010. Plants used by native Amazonian groups from the Nany River (Peru) for the treatment of Malaria. *Journal of Ethnopharmacology.* Vol 133: 917-921 pp.
- 40) Sáenz, M.; Fernandez, M.; García, M.; 1997. Antiinflammatory and Analgesic Properties from Leaves of *Eryngium foetidum* L. *Phytotherapy Reserch.* Vol. 11: 380-383 pp.
- 41) Sing, S.; Swain, S.; Sing, D.; Salim, K.; Nayak, D.; Dam, S.; 2015. Changes in phytochemicals, anti-nutrients and antioxidant activity in leafy vegetables by microwave boiling with normal and 5% NaCl solution. *Food Chemistry.* Vol 176: 244-253 pp.
- 42) Singh, S.; Sing, D.; Banu, S.; 2013. Determination of Bioactives and Antioxidant Activity in *Eryngium foetidum* L.: A Traditional Culinary and Medicinal Herb. *The national academy of science.* Vol 83: 453-460 pp.
- 43) Solis, P.; 2011. (Tesis de Pre Grado) Efecto de la concentración y del tipo de tratamiento sobre la Actividad Antioxidante de la Chirimiya (*annona cherimola* Mill).

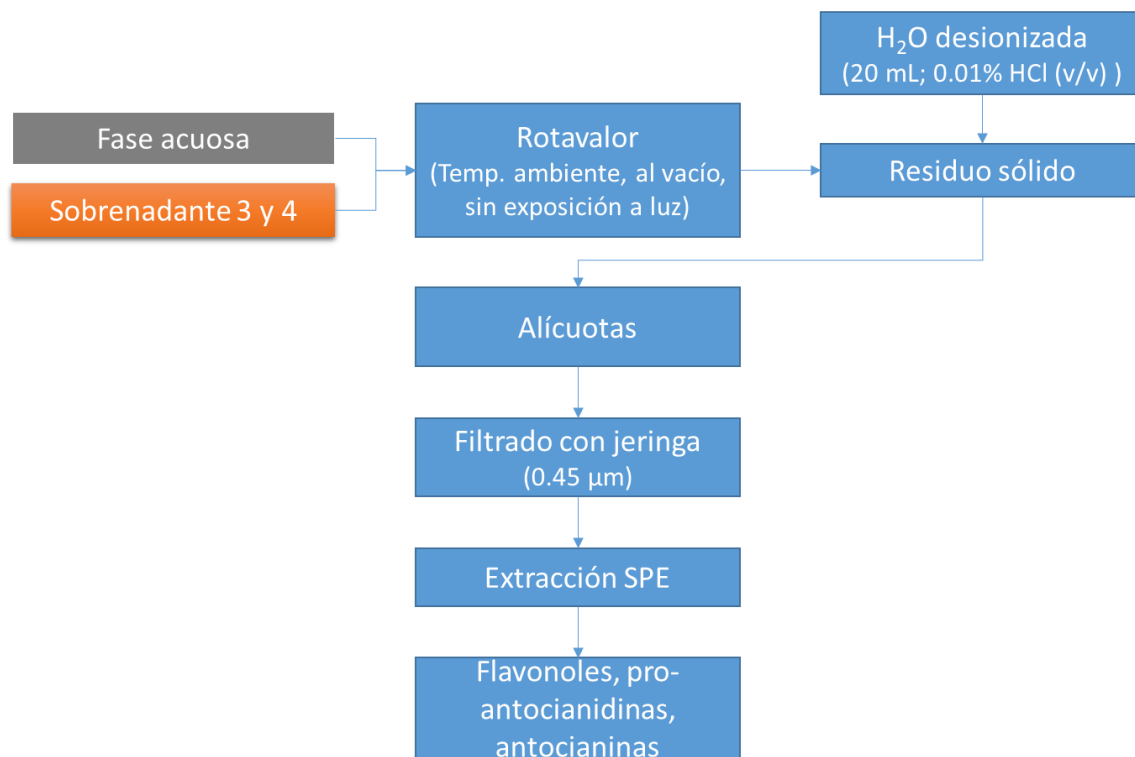
- 44) Sousa, J. P.; Brancalion, A.; Souza, A.; Turatti, I.; Ambrosio, S.; Furtado, N.; Lopes, N.; Bastos, J.; 2011. Validation of a gas chromatographic method to quantify sesquiterpenes in copaiba oils. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Vol. 54: 653-659 pp.
- 45) Sreeramulu, D.; Raghunath, M. 2010. Antioxidant activity and phenolic content of roots tubers and vegetables commonly consumed in India. *Food research international*. Vol 43: 1017-1020 pp.
- 46) Sreelata, S.; Padma, P.; Umadevi, M. 2009. Protective effects of *Coriandrum sativum* extracts on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Food & Chemical Toxicology*. Vol 47: 702-708 pp.
- 47) Szollosi R.; Varga I. 2002. Total antioxidant power in some species of Labiatae (Adaptation of FRAP method) *Acta Biol. Szeg.*; 46(3-4):125-127pp.
- 48) Taylor L (2016) Tropical Plant Database File for: Copaiba - *Copaifera officinalis*, *Copaifera langsdorffii*, *Copaifera reticulata*. <http://www.rain-tree.com/copaiba.htm#.V0h7kOSZ1Nc>. Accessed 27 May 2016
- 49) Tincusi, B.; Jiménez, I.; Bazzocchi, I.; Moujir, L.; Mamani, Z.; Barroso, J.; Ravelo, A.; Hernández, B. 2002. Antimicrobial Terpenoids from the Oleoresin of the Peruvian Medicinal Plant *Copaifera Paupera* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12357392>.
- 50) Vieira A.; Batista, A.; Vicente, N.; Castro, A.; Gomoies, L.; Riccio, M.; Nogueira, M. 2012. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. *Food Research International*. Vol 49: 596-603 pp.
- 51) Vukic, M.; Vukovic, N.; Gorica, T.; Obradovic, A.; Kacaniova, M.; Markovic, S.; Popovic, S.; Basic, D.; 2018. Phytochemical analysis, antioxidant, antibacterial and cytotoxic activity of different plant organs of *Eryngium serbicum* L. *Industrial Crops & Products*. Vol 115: 88-97pp.
- 52) Wolfe, Kelly.; Liu, Rui. Hai. 2008. Structure-Activity Relationship of Flavonoids in the Cellular Antioxidant Activity Assay. *J. Agric. Food Chem*. Vol56 (18): 8404-8411p.
- 53) Worz, A., 2004. On the distribution and relationships of the South-West Asian species of *Eryngium* L. (Apiaceae-Saniculoideae). *Turk. J. Bot.* 28, 85–92.
- 54) Yanza, F. 2014. Evaluación del contenido de alcaloides, taninos, flavonoides y aceites esenciales de dos variedades de culantro cultivadas en dos tipos de suelos. Tesis de Pre-grado. Universidad Técnica de Machala.

7. Anexos

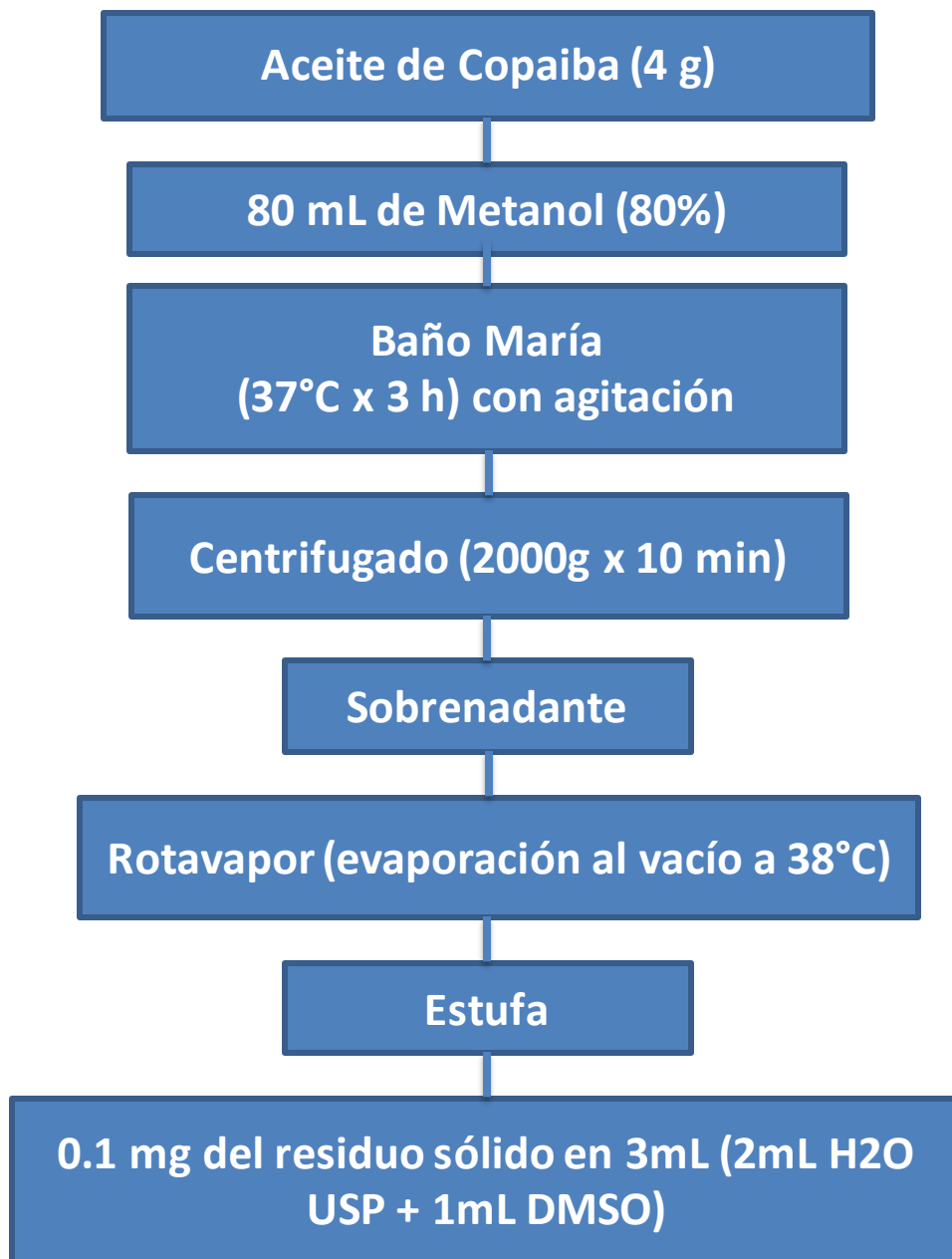
Anexo 1: Extracción Metanólica y Acetonica de Hoja de Sacha Culantro (Reichel et al. 2011).



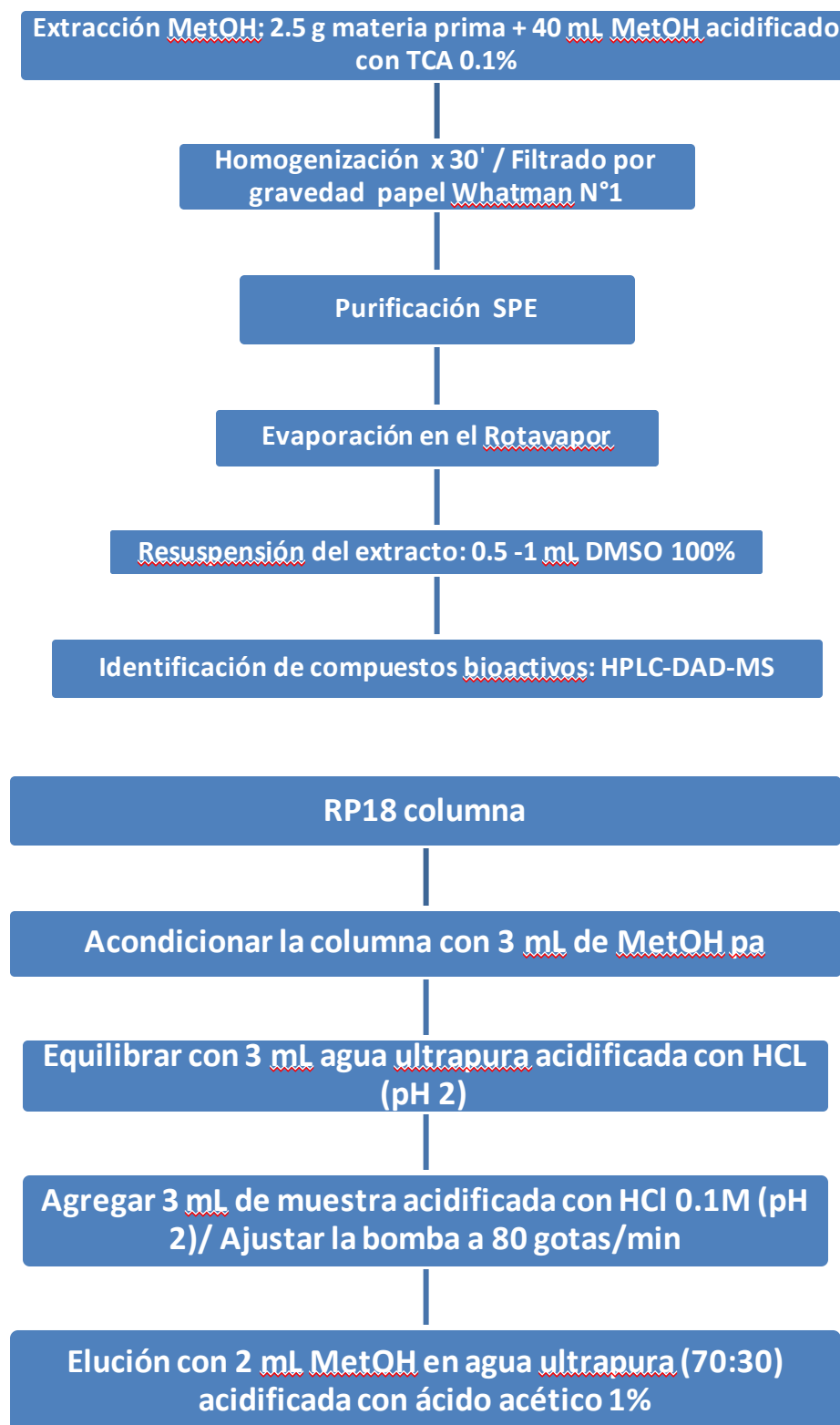




Anexo 2: Extracción metanólica y etanólica de Aceite de Copaiba. (Vieira et al. 2012).



Anexo 3: Flujograma de la Purificación SPE. (Irakli et al. 2012).



Anexo 4:

Imagen 1: Selección, clasificación y Secado.



Imagen 2: Extracto de Hoja de Sacha Culantro

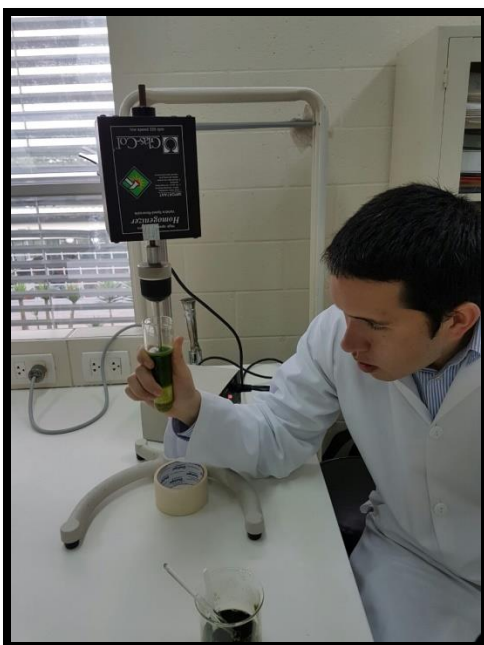


Imagen 3: Pruebas de determinación de Capacidad Antioxidante de los distintos extractos



Imagen 4: Prueba de DPPH



Anexo 5: Artículos Científicos publicados.

Pharmacog J. 2019; 11(1): xx-xx
A Multidisciplinary Journal in the Field of Natural Products and Pharmacognosy
www.phcogj.com | www.journals.unwsul.edu.pe | www.phcog.net

Original Article

Cytoprotective Effect of the *Eryngium foetidum* "Sacha Culantro" Methanolic Leaf Extract Versus Sodium Fluoride Exposed Mice using the Micronucleus Test and the Comet Assay

Paola Raunelli^{1,2,4}, Danae Liviac², Rafael Alvis², Silvio Puente⁴, Oscar Reátegui^{1,2,4}

Paola Raunelli^{1,2,4}, Danae Liviac², Rafael Alvis², Silvio Puente⁴, Oscar Reátegui^{1,2,4}

¹Agroforestry Engineering School, Universidad Científica del Sur, Lima, PERU.
²Laboratory of Cellular and Molecular Biology, Universidad Científica del Sur, Lima, PERU.
³Nutrition and Dietetic School, Universidad Científica del Sur, Lima, PERU.
⁴Medical School, Universidad Científica del Sur, Lima, PERU.

Correspondence:
Dr. Oscar Reátegui Arivolo
School of Agroforestry Engineering, Universidad Científica del Sur, Lima, PERU.
Phone no: +5198878087
Email: oreategui@cientifica.edu.pe

History
• Submission Date: 2018-03-01;
• Review completed: 2018-03-08;
• Accepted Date: 2018-03-08.

DOI : 10.5530/pj.2019.11.x

Article Available online
<http://www.phcogj.com/v11/i1>

Copyright
© 2019 PhcogNet. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



ABSTRACT

Introduction: *Eryngium foetidum*, commonly known as sachaculantro, is a plant that grows in the Peruvian Amazonian jungle, studied for its high concentration of antioxidant substances and various ethnopharmacological properties. The main goal of the study is to observe the cytoprotective and antioxidant effect of the extract from its leaves in *Mus musculus* previously administered with Sodium fluoride (NaF) using the Micronucleus test and the Comet assay. **Methods:** The extract was administered orally in four different concentrations: 180, 360, 720, 1440 mg/Kg for ten days, at the 11th day a single dose of NaF was administered via intraperitoneal at 20 mg/Kg. The genotoxicity study was made with mice from the strain BALB/c, using the Micronucleus test on bone marrow and the Comet assay on peripheral blood according to the OECD guides 474 and 489 respectively. The statistical analysis was made by the media's analysis with ANOVA. **Results:** Significant differences were found in Micronucleus frequency between the highest concentrations of *Eryngium foetidum* and NaF. The Comet assay showed significant reduction in NaF induced damage according to different concentrations of the extract. **Conclusion:** The *Eryngium foetidum* extract has cytoprotective activity against oxidant substances such as NaF.

Key words: *Eryngium foetidum*, Cytoprotective, Micronucleus test, Comet assay, Toxicity, Genotoxicity.

INTRODUCTION

The Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP) reports that the Peruvian Amazonian jungle holds the greatest biological diversity worldwide, known by the medicinal components in the leaf of its plants.¹ On 1993, the World Health Organization (WHO) reported that 80% of the world population draw on traditional medicine to assist their needs in primary care. Despite that, there is no true knowledge and sufficient research to use medicinal plants, such as dosage, plants species, etc.; they are even considered as primitive measurements.²

Eryngium foetidum (EF), a medicinal plant commonly known in Perú as sachaculantro, from the family *Asteraceae*, is distributed in the Peruvian jungle and other places in America, some places of Asia like the east of India and Australia.^{3,4} Among the substances held in its leaf there are a lot of bioactive compounds such as flavonoids, known for their activity on endothelium and their anti-inflammatory activity.^{5,6} EF grows in several places of Perú and has been used by the native people of these areas based on traditional

knowledge of its therapeutic effects, which also have drawn attention from researches across the globe. The major of these effects is based on traditional use, experiments *in vitro* or on animal models but not on clinical trials, therefore there is no sufficient data for the human application. Some of the effects known are anthelmintic, anti-convulsant, anti-inflammatory, analgesic, antimalarial and antibacterial, among others.⁷

The flavonoids are substances widely studied for its anti-inflammatory effects, though they also may have pro-inflammatory effects,⁸ depending on the context in which they are used: concentration, physical factors and other chemical substances present such as metal ions, the most described is copper.⁹ This anti-inflammatory activity, mainly based on the antioxidant activity, leads to various effects provided to the plants that contains them. Some researchers describe flavonoids as chemoprevention agents, with antimutagenic potential, with an important role in human health preservation.¹⁰ The use of natural substances to assess certain pathologies draws more attention in time, which

Cite this article: Raunelli P, Liviac D, Alvis R, Puente S, Reátegui O. Cytoprotective Effect of the *Eryngium foetidum* "Sacha Culantro" Methanolic Leaf Extract Versus Sodium Fluoride Exposed Mice using the Micronucleus Test and the Comet Assay. *Pharmacog J.* 2019;11(1):xx-xx.

Phytochemical Analysis, *in vitro* Antioxidant Capacity and Toxicity Assessment of *Copaifera paupera* Oleoresin

Danae Livlac¹, Paola Raunelli², Rafael Alvis¹, Silvio Puente³, Oscar Reategui^{3*}

Danae Livlac¹, Paola Raunelli², Rafael Alvis¹, Silvio Puente³, Oscar Reategui^{3*}

¹Laboratory of Cellular and Molecular Biology, Universidad Científica del Sur, Panamericana Sur Km 19, Lima, PERÚ.
²Universidad Científica del Sur, Panamericana Sur Km 19, Lima, PERÚ.
³School of Agroforestry Engineering, Universidad Científica del Sur, Panamericana Sur Km 19, Lima, PERÚ.

Correspondence

Prof. Oscar Reategui

School of Agroforestry Engineering, Universidad Científica del Sur, Panamericana Sur Km 19, Lima, PERÚ.

Phone no : +51 610 6400

E-mail: oreategui@cientifica.edu.pe | O. Reategui

History

- Submission Date: 02-08-2018;
- Review completed: 26-10-2018;
- Accepted Date: 06-12-2018.

DOI : 10.5530/phj.2019.11.57

Article Available online
<http://www.phcogj.com/v11/i2>

Copyright

© 2019 Phcog.Nat. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.

ABSTRACT

Introduction: The present study was taken to determine the phytochemical analysis, the antioxidant activity *in vitro* (FRAP and TBARS methodologies), the oral acute toxicity and antigenotoxicity of the oleoresin *Copaifera paupera*. **Methods:** The oleoresin was tested for *in vivo* cytoprotective capacity using the Micronucleus Test and the Comet Assay in mice bone marrow cells and mice erythrocytes cells, respectively. **Results:** The oleoresin had low levels of total flavonoids and phenol content and also of antioxidant capacity. Orally, the LD₅₀ appeared to be > 5000 mg/kg (no toxic or low toxic). The results showed all the doses evaluated (180 360, 720 and 1440 mg/kg) antigenotoxic effect by reduce the DNA damage induced by cyclophosphamide, being a 100 % DNA damage reduction at the highest dose evaluated. **Conclusion:** According to the Micronucleus test, the oleoresin *Copaifera paupera* had the ability of increase the cell proliferation despite the exposition of cyclophosphamide. **Keywords:** *Copaifera paupera*, Oleoresin, Phytochemical analysis, Antigenotoxicity, Micronucleus test, Comet assay.

INTRODUCTION

The use of herbal medicinal plant products and phytonutrients had been increased in the last decade; the public interest and acceptance of their use as alternative and complementary medicine is not only in developing countries but also in developed ones.¹ One of the major reasons of the use of herbal medicine on the developed countries is the belief that it will promote a healthier living, a source of natural product medication.² That's the reason why more than half of the natural product-derived compounds that are undergoing clinical trials for ingredients of development drugs are derived from plants,³ being the plants the source of most of the active ingredients of traditional medicaments.⁴

The World Health Organization (WHO) reports that almost 80% of the world's population trust on medicinal plant for their primary health care needs,⁴ that represents up to four billion people of developing countries.⁵ According to Organización Panamericana de la Salud,⁶ a medicinal plant is any wild or cultivated plant used to prevent, relieve, cure or modify a normal or pathological physiological process or as a source of drugs or their precursors. This kind of medicine is based in the inherited knowledge that has been passed down from generation to generation that are culturally linked, providing a cheaper and easier access than the modern drugs and also, the trust on their communities traditions.⁷ Therefore, is necessary scientific information of effectiveness and safety of medicinal plants to avoid

Peru is considered as a country with one of the highest biodiversities in the world, which has 10% of the global plant diversity that makes it a country with millennia history of plant use for treatment of diseases,^{8,9} with many of them being used nowadays. According to the Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP), the Peruvian Amazonian jungle holds the greatest biological diversity worldwide, known by the medicinal components in the leaf of its plants but for some authors, is the Andean region where is the highest number of multiple use plant species.¹⁰

The *Copaifera* genus is distributed in the tropical regions of Latin America (40 species), West Africa (4 species) and Asia (1 species) and the oleoresin (copaiba oil) is produced by exudation of the trunk of the trees.¹¹ The Peruvian species that predominates in the Amazon region of the country is *Copaifera paupera*, it has been applied in folk medicine for many years by the natives. Recently, studies of *Copaifera* genus have shown anti-inflammatory, antitumor, antitetanus, antiseptic effects and useful in the treatments of various disease like asthma, ulcer, bronchitis, psoriasis and wound healing.¹²⁻¹³ The single-cell gel electrophoresis (SCGE) assay or comet assay is a very simple, rapid, economic, versatile and sensitive technique for measuring primary DNA damage.¹⁴ This technique