

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE ESTUDIO DE FARMACIA Y
BIOQUIMICA



**Determinación de moléculas bioactivas y su capacidad
antioxidante en extractos de hojas de *Annona cherimolla* L.
“chirimoya” procedente del distrito de Simbal-La Libertad.**

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Autores:

Cruz Gutierrez, Ruth

Paredes Polo, Jenny

Asesor

Cacha Salazar, Carlos Esteban

(Código ORCID: 0000-0002-3169-5891)

Nuevo Chimbote – Perú

2023

INDICE DE CONTENIDOS

INDICE GENERAL	
INDICE DE TABLAS	ii
PALABRA CLAVE	iii
INDICE DE FIGURAS	iv
CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD	v
TITULO	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT.....	viii
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	9
Tipo y Diseño de investigación	9
Población - Muestra y Muestreo	9
Técnicas e instrumentos de investigación.....	11
Procesamiento y análisis de la información.....	12
RESULTADOS	13
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN	26
CONCLUSIONES	30
RECOMENDACIONES.....	30
ANEXOS	36

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Clasificación de la hoja de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya”	35
Tabla 2	Características organolépticas y físicas de la hoja de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya”	36
Tabla 3	Evaluación organoléptica y de caracteres físicos de los extractos acuoso, etanólico y clorofórmico de las hojas de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya”	37
Tabla 4	Metabolitos secundarios presentes en las hojas de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad.	37
Tabla 5	Actividad antioxidante del Ácido Ascórbico	
Tabla 6	Captación porcentual del DPPH por el extracto acuoso de las hojas de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad.	
Tabla 7	Captación porcentual del DPPH por el extracto etanólico de las hojas de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad.	
Tabla 8	Concentración inhibitoria 50 (IC50) y actividad antioxidante relativa (AAR) del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya”	

INDICE DE FIGURAS

Figura 1:	Curva de calibración de la actividad antioxidante del Ácido Ascórbico frente al DPPH	36
Figura 2:	Porcentaje de inhibición del radical DPPH por el Ácido Ascórbico	36
Figura 3:	Relación entre el Porcentaje de inhibición y la concentración del extracto acuoso de las hojas de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya”	37
Figura 4:	Relación entre el Porcentaje de inhibición y la concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya”	38
Figura 5:	Concentración inhibitoria 50 (IC50) del Ácido ascórbico, extracto acuoso y extracto etanólico de las hojas de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya”	39
Figura 6:	Actividad Antioxidante Relativa del Ácido ascórbico, extracto acuoso y extracto etanólico de las hojas de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya”	40

1 Palabras clave:

Tema	Capacidad antioxidante, <i>Annona cherimolla</i> L.
Especialidad	Fitoquímica

keyword

Theme	Antioxidant capacity, <i>Annona cherimolla</i> L.
Specialty	Phytochemistry

Línea de investigación

Línea de investigación	Recursos naturales terapéuticos y fitoquímica
Área	Ciencias médicas y de salud
Subárea	Medicina básica
Disciplina	Farmacología y farmacia



USP
UNIVERSIDAD SAN PEDRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

El que suscribe, Vicerector de Investigación de la Universidad San Pedro:

HACE CONSTAR

Que, de la revisión del trabajo titulado "Determinación de moléculas bioactivas y su capacidad antioxidante en extractos de hojas de *Annona cherimolla* L. "chirimoya" procedente del distrito de Simbal-La Libertad" del (a) estudiante: **CRUZ GUTIERREZ RUTH**, identificado(a) con Código N° **1316200036**, se ha verificado un porcentaje de similitud del **23%**, el cual se encuentra dentro del parámetro establecido por la Universidad San Pedro mediante resolución de Consejo Universitario N° 5037-2019-USP/CU para la obtención de grados y títulos académicos de pre y posgrado, así como proyectos de investigación anual Docente.

Se expide la presente constancia para los fines pertinentes.

Chimbote, 28 de septiembre de 2023

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Dr. JAVIER MARTÍNEZ GARRÓN
VICERECTOR



NOTA: Este documento carece de valor si no tiene adjunta el reporte del Software TURNITIN.

2 Título

Determinación de moléculas bioactivas y su capacidad antioxidante en extractos de hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente del distrito de Simbal-La Libertad.

3 Resumen

El proyecto busca determinar la capacidad antioxidante de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”. y que metabolitos secundarios se encuentran en las hojas de esta especie vegetal. La actividad antioxidante será determinada haciendo uso de lal método DPPH; y los metabolitos secundarios serán determinados mediante las pruebas del screnning fitoquímico. Todas las pruebas se realizarán por triplicado y en una muestra no aleatoria escogida a partir de una población no determinada, pero que corresponde a un nicho ecológico determinado que en este caso es el distrito de Simbal.

En las hojas de *Annona cherimolla* L. se encontraron flavonoides, quinonas, taninos, saponinas y alcaloides en los extractos acuoso y etanólico. En el extracto clorofórmico se determinaron triterpenos, esteroides, lactonas y cumarinas y aceites y grasas.

El extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal- La Libertad, tiene una actividad antioxidante similar al Ácido ascórbico pues exhibe un IC50 de 3.13 similar al IC50 de 3.12 del Ácido ascórbico; en cambio el extracto acuoso de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad, tiene una actividad menor (IC50 de 3.47) en comparación con el IC50 del Ácido ascórbico de 3.12.

Finalmente, con los resultados pudimos concluir que en las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad, existen sustancias polifenólicas y según el IC50 del extracto etanólico tiene una actividad antioxidante similar a la sustancia de referencia que es el Ácido ascórbico, no siendo este el caso del extracto acuoso.

Palabras clave: *Annona cherimolla* L. Actividad antioxidante, Radicales libres

4 Abstract

The project seeks to determine the antioxidant capacity of the leaves of *Annona cherimolla* L. "cherimoya". and what secondary metabolites are found in the leaves of this plant species. The antioxidant activity will be determined using the DPPH method; and secondary metabolites will be determined by phytochemical screening tests. All the tests will be carried out in triplicate and in a non-random sample chosen from an undetermined population, but which corresponds to a specific ecological niche, which in this case is the Simbal district.

In the leaves of *Annona cherimolla* L., flavonoids, quinones, tannins, saponins and alkaloids in the aqueous and ethanolic extracts were found. In the chloroform extract, triterpenes, steroids, lactones and coumarins, and oils and fats were determined.

The ethanolic extract of the leaves of *Annona cherimolla* L. "cherimoya" from Simbal-La Libertad, has an antioxidant activity similar to ascorbic acid, since it exhibits an IC₅₀ of 3.13 similar⁵ to the IC₅₀ of 3.12 of ascorbic acid; On the other hand, the aqueous extract of the leaves of *Annona cherimolla* L. "chirimoya" from Simbal-La Libertad, has a lower activity (IC₅₀ of 3.47) compared to the IC₅₀ of ascorbic acid of 3.12.

Finally, with the results we were able to conclude that in the leaves of *Annona cherimolla* L. "cherimoya" from Simbal-La Libertad, there are polyphenolic substances and, according to the IC₅₀ of the ethanolic extract, it has an antioxidant activity similar to that of the reference substance, which is Acid ascorbic acid, this not being the case of the aqueous extract.

Keywords: *Annona cherimolla* L. Antioxidant activity, Free radicals

5 Introducción

Antecedentes y fundamentación científica

Durán et al., (2021) en su estudio “Una descripción general de las características químicas, la bioactividad y los logros con respecto al uso terapéutico de acetogeninas de *Annona cherimola* Mill.” Refieren que *Annona cherimola* Mill., o chirimoya, es una de las especies pertenecientes a la familia Annonaceae, es ampliamente utilizada en la medicina tradicional y ha sido reportada como una valiosa fuente de compuestos bioactivos. Una clase única de metabolitos secundarios derivados de esta familia son las acetogeninas anonáceas, policétidos lipófilos considerados entre los compuestos antitumorales más potentes. Esta revisión proporciona una descripción general de la diversidad química, los procedimientos de aislamiento, la bioactividad, los modos de aplicación y los derivados sintéticos de las acetogeninas de *A. cherimola* Mill.

Aguilar-Villalva et al., (2021) en su investigación para comparar la capacidad antibacteriana y antioxidante de las hojas de *Annona cherimola* Mill, utilizando diferentes métodos de extracción. Se comparó la técnica de extracción asistida por ultrasonido (UAE) con las técnicas convencionales: Soxhlet y maceración. Se utilizaron agua y etanol como solventes para las extracciones de hojas realizadas con estos tres métodos. Las principales acetogeninas reportadas en las especies *Annona cherimola* Mill y *Annona muricata* L. fueron simuladas usando el híbrido funcional B3LYP y para confirmar su presencia se realizó un análisis de la composición del compuesto usando FT-IR, UV-Vis y HPLC. Los fenoles totales (TP) y los flavonoides (TF) se determinaron mediante técnicas de espectroscopia y una novedosa técnica electroquímica de voltamperometría de pulso diferencial (DPV). Se midió la Capacidad Antioxidante Total (TAC) de los extractos, utilizando las técnicas DPPH, FRAP y CUPRAC. El mayor contenido de antioxidantes se encontró en los extractos de acuoso por Soxhlet; aun así, la técnica UAE presentó una alternativa atractiva debido a la considerable reducción del tiempo de extracción, que fue superior al 99%, y la posible selectividad en la extracción de compuestos. Finalmente, se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos, obteniendo los mejores resultados frente a

bacterias grampositivas utilizando extracto acuoso de EAU. De esta forma, la técnica UAE presenta una excelente opción de extracción debido a la considerable reducción de tiempo y energía, así como al aumento de la actividad antibacteriana.

Lacopetta et al., (2022) realizaron una investigación “*Annona cherimola* Mill. Los extractos de hojas afectan el crecimiento y la progresión de las células del melanoma” con el propósito de investigar las propiedades antioxidantes y anticancerígenas en las células de melanoma de los extractos etanólico, metanólico y acuosos de hojas de *Annona cherimola* (ACE, ACM y ACW, respectivamente). El extracto etanólico mostró mayor actividad anticancerígena, principalmente contra la línea celular de melanoma maligno A2058 ($IC_{50} = 5,6 \pm 0,8$ ng

Martín-García et al., (2022) en su estudio “Desarrollo de una técnica de extracción basada en sonotrodos eficaz para la recuperación de compuestos fenólicos con actividad antioxidante en hojas de chirimoya”, basados en el conocimiento que las hojas de *Annona cherimola* Mill (chirimoya) son una fuente potencial de compuestos fenólicos que han demostrado tener propiedades beneficiosas. Realiza un estudio con el propósito de realizar extracción con ultrasonido de sustancias fenólicas de hojas de chirimoya utilizando un equipo de ultrasonido llamado sonotrodo. Para ello, se refieren haber utilizado un diseño de Box-Behnken, una metodología basada en superficie de respuesta (RSM) con el propósito de optimizar factores como la amplitud, el tiempo de extracción y la composición del solvente para obtener el máximo contenido de compuestos fenólicos por HPLC-MS y la máxima actividad antioxidante in vitro mediante ensayos DPPH, ABTS y FRAP en hojas de chirimoya 'Fino de Jete'. Las condiciones óptimas fueron 70% de amplitud, 10 min y etanol/agua (EtOH/H₂O) (v/v) 40:60.

Los resultados obtenidos en estas condiciones óptimas mediante el uso de un sonotrodo se compararon con los de un baño ultrasónico; brevemente, la recuperación de compuestos fenólicos por sonotrodo fue 2,3 veces mayor que un baño. Por ello, estas condiciones óptimas se aplicaron a diferentes variedades ‘Campas’, ‘Fino de

Jete' y 'Negrito Joven' cosechadas en la Costa Tropical de Granada (España). En estos extractos de hojas de chirimoya se determinaron un total de 39 compuestos fenólicos, 24 compuestos fenólicos por HPLC-MS y 15 proantocianidinas por HPLC-FLD. El ácido 5-p-cumaroilquínico, latirósido-7-O- α -l-ramnopiranosido y acetato de quercetina hexosa se identificaron por primera vez en hojas de chirimoya. Los compuestos fenólicos más concentrados fueron los flavonoides, como la rutina y el hexósido de quercetina y las proantocianidinas, incluidos los monómeros. Casi no se encontraron diferencias significativas en el contenido fenólico en estos cultivares (11–13 mg/g p.s. para compuestos fenólicos y 11–20 mg/g p.s. para proantocianidinas). Además, la extracción asistida por ultrasonidos con sonotrodos ha demostrado ser una técnica de extracción eficiente en la recuperación fenólica de las hojas de chirimoya que podría implementarse a escala industrial.

Rabhi & Saadoune, (2021) en su investigación “Exploration de potentiel antioxydant de l'extrait d'annona”, afirma que las sustancias naturales de la mayoría de las plantas espontáneas son buscadas debido a sus muchas actividades biológicas que han demostrado efectos positivos sobre la salud como tratamiento para ciertas enfermedades. Sin embargo, además de su delicado y apetecible sabor, se utiliza como medicina tradicional, la cual posee múltiples actividades biológicas como actividad antioxidante, antibacteriana y antiinflamatoria, lo que contribuye a la protección del organismo humano. Este trabajo es parte de la investigación de antioxidantes naturales, por lo que se evaluó las propiedades antioxidantes de los componentes de la planta medicinal *Annona cherimola*. Evaluado por el método DPPH y en comparación con el ácido ascórbico, así como su propiedad antiinflamatoria.

Los resultados obtenidos, siendo todas positivas las pruebas DPPH realizadas. La comparación se realizó en relación a la concentración inhibitoria (IC50 DPPH extraída = 25.53 miligramos).

En el Perú, Silva-Correa et al., (2021) Evaluaron la capacidad antioxidante y hepatoprotectora del extracto etanólico de hojas de *A. cherimola* frente a la toxicidad

inducida por paracetamol en ratas, determinaron la cantidad de fenoles totales del extracto etanólico de *A. cherimola* Mill. Mediante el método Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante mediante la técnica del DPPH. Administraron 3 dosis del extracto etanólico de hojas de *A. cherimola* (250, 500 y 750 mg/Kg/día) a ratas y cuantificaron en sangre la alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y fosfatasa alcalina. (ALP), realizaron el análisis histopatológico de tejido hepático. Determinaron que el extracto etanólico de hojas de *A. cherimola* tuvo 41,26 mg GAE/g de extracto y la capacidad antioxidante secuestradora del DPPH fue de 85,51%. *A. cherimola* redujo los niveles sanguíneos de ALT, AST y ALP, en comparación con el grupo control Paracetamol, extracto etanólico, siendo más eficaz a dosis de 750 mg/Kg/día. La evaluación histopatológica sugirió que *A. cherimola* disminuyó la necrosis hepática y el proceso degenerativo inducido por paracetamol. Concluyendo que lograron demostrar actividad hepatoprotectora, dosis dependiente, del extracto etanólico de hojas de *A. cherimola* y que el mecanismo puede involucrar actividad antioxidante y al total de polifenoles.

Sánchez-Gonzales et al., (2019) en su investigación “Sustancias fenólicas y capacidad antioxidante del extracto de hojas de chirimoya (*Annona cherimola* Mill)” encontraron que las hojas pueden ser utilizadas como antioxidantes; Cuantificaron las sustancias fenólicas y la capacidad antioxidante del extracto de hojas secas de *Annona cherimola* M. en alcohol etílico al 70% v/v, agua a 80 °C, y agua subcrítica a 110, 120 y 130 °C, mediante el diseño factorial con el programa Minitab. Las sustancias fenólicas totales se cuantificaron con la técnica de Folin Ciocalteu y la capacidad antioxidante con DPPH y FRAP.

Encontraron que el solvente y el tiempo del proceso extracción favorecen significativamente en el contenido de polifenoles y actividad antioxidante del extracto. Concluyen que el extracto de hojas de chirimoya tiene capacidad antioxidante. El extracto de agua subcrítica a 130 °C presentó el mayor contenido de polifenoles (5,6 g EAG/100 g de hoja seca) y el extracto etanólico presentó mayor capacidad antioxidante (0,86 mg equivalente trolox/mg extracto seco; IC₅₀=0,020 mg de extracto

seco/mL de extracto de hojas secas y FRAP de 1710,14 μmol equivalente trolox /g de hojas secas) y los extractos obtenidos con agua subcrítica a menor temperatura presentaron mayores valores de capacidad antioxidante.

Alvarado Mayor & Flores, (2022) estudió el efecto de *Annona muricata* (del mismo género de *Annona cherimolla*) frente a la línea celular de adenocarcinoma gástrico de ratón C-678 con resultados positivos, destacando que no se encontraron evidencia en células humanas. El estudio realizado es in vitro analítico y se usó extracto hidroalcohólico de hojas de *Annona muricata* colectadas en Amazonas. Para evaluar la actividad citotóxica, se prepararon diferentes diluciones de extracto y se agregaron a las placas con las líneas celulares cultivadas y mediante una ficha de observación los datos fueron extrapolados a GraphPad. En este estudio se reportan haber identificado alcaloides, tritérpenos, fenoles, flavonoides, carbohidratos reductores, taninos, esteroides, saponinas, proteínas, glicósidos cardiotónicos y antocianinas. La cantidad total de fenoles se reportó en ácido gálico, comprobando la presencia de una buena cantidad de estos metabolitos. Adicionalmente determinaron el contenido de flavonoides usando quercetina como patrón. La citotoxicidad de la *Annona muricata* se evaluó en la línea celular de adenoma gástrico, con un IC50 a las 24 horas de 45.81 $\mu\text{g/mL}$ y 19.05 $\mu\text{g/mL}$ a las 48 horas, concluyendo que esta planta posee un efecto citotóxico contra la línea celular Adenoma Gástrico.

Huayhuash Huamanchumo, (2019) en su tesis sobre la capacidad antioxidante de los polifenoles totales de hojas de *Annona chirimola* (chirimoya), nos dice que las biomoléculas activas de las plantas han contribuido a la calidad de vida de las personas, los principios activos presentes en estas plantas medicinales fortalecen la salud de los humanos. Realizo un estudio descriptivo, en la que se determinó el contenido total de polifenoles mediante la técnica de Folin–Ciocalteu, usando como patrón catequina y para determinar la actividad antioxidante se usó 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) y se usó como patrón Trolox.

La colecta de las hojas se realizó teniendo en cuenta el estado fitosanitario, luego se desarrolló un proceso que termino en la preparación del extracto metanólico al 80 %, en este extracto se cuantifico los polifenoles por medio de espectrofotometría. Los resultados indican que el contenido de polifenoles totales en las muestras de extracto metanólico de hojas fue de 51 ± 0.88 ; mg de catequina eq/g de muestra seca en promedio. La actividad antioxidante del extracto metanólico en hojas fue de $381,03 \pm 10.68$ mM Trolox eq. /g de muestra seca en promedio y concluyo que las hojas de *Annona chirimolla* tienen una buena cantidad de polifenoles totales y una aceptable capacidad antioxidante.

Fundamentación científica

La *Annona cherimola* es un árbol frutal de la familia Annonaceae. Como es una planta ampliamente cultivada en el mundo, su origen aún está en discusión. Una hipótesis postula que se originó en los Andes a 700-2400 m de altitud, mientras que una hipótesis alternativa postula que se originó en América Central fundamentada a la gran cantidad de parientes silvestres. Esta especie se considera originaria del territorio entre Ecuador y Perú. Sin embargo, investigaciones más recientes basadas en análisis biogeográficos con marcadores SSR respaldan un probable origen mesoamericano de *A. cherimola*. La chirimoya se introdujo en la España continental desde América entre los siglos XVI y XVIII con el primer registro en 1757.

Después de eso, la chirimoya probablemente se expandió a otros países europeos. La flor de la chirimoya es hermafrodita con un centro piramidal gineceo compuesto por hasta 300 carpelos fusionados y un androceo helicoidal basal con estambres rodeados por dos verticilos de tres pétalos. la dicogamia floral es la característica más importante de esta especie. Las flores hermafroditas tienen órganos femeninos y masculinos que no maduran simultáneamente impidiendo generalmente la autofecundación en la misma flor. El ciclo de la flor se completa en 2 días. En el

primer día, la flor está en preantesis, con los pétalos bien cerrados y pasa al estado femenino hacia el mediodía.

Esta fase tiene una duración de 30 horas y en el segundo día la flor cambia de la etapa femenina a la masculina, cuando las anteras dehiscen, alrededor de las 4-5 de la tarde en condiciones mediterráneas. Las flores de chirimoya del mismo genotipo generalmente se abren sincrónicamente y la transferencia de polen entre diferentes flores del mismo genotipo es difícil. Los frutos de *Annona* son carnosos y agregados con varias semillas formadas principalmente por endospermo reticulado y un embrión diminuto. Los frutos de chirimoya son cónicos o en forma de corazón con pulpa blanca dulce y jugosa. La piel puede ser lisa con marcas similares a huellas dactilares o cubierta con protuberancias cónicas o redondeadas. El peso de la fruta de chirimoya está entre 200 y 700 g y su longitud está entre 7,5 y 12,5 cm. La pulpa es blanca y subácida y tiene un sabor delicado y fragante, como el de la piña y el plátano. Hay muchas semillas en la fruta. (21 a 41 semillas/fruto), que miden entre 1,5 y 2,0 cm de largo y alrededor de 1,0 cm de ancho. La fruta de chirimoya es sensible al pardeamiento. El oscurecimiento es muy rápido a temperatura ambiente. Debido a la rápida maduración climatérica, los frutos de chirimoya son perecederos. El almacenamiento entre 10-12 °C puede retrasar ligeramente la maduración y prolongar la vida de los frutos. La pulpa de esta fruta es blanda por lo que el fruto es comestible. Estos frutos no maduran en planta, sino que a los 3-6 días después de ser cosechada. En comparación con otras frutas, la maduración se produce rápidamente en la chirimoya. pues madurará en 6-7 días a temperatura ambiente.

Esta es una de las razones que limitan en gran medida la potencialidad de mercado de esta fruta. Por otro lado, esta fruta, también hoy, encuentra varias aplicaciones en la medicina tradicional gracias a sus propiedades antibacterianas e insecticidas y en el tratamiento de trastornos digestivos y enfermedades de la piel. (Perrone et al., 2022)

Annona cherimola, fruta de postre que se come fresca, pues los frutos de no pueden ser sometidos a procesos térmicos y se requiere refrigeración o congelación para su procesamiento, con adición de antioxidantes para evitar el pardeamiento enzimático. Las semillas de *Annona cherimola* se usan como insecticida de piojos y curar problemas de parásitos en la piel. En las semillas se encuentran las acetogeninas. alcaloides importantes, con actividad antiparasitaria y citotóxica. Las acetogeninas anonáceas son un grupo de poderosos principios activos y se han reportado más de 300 compuestos con diferentes actividades biológicas, como actividades antimicrobianas, antitumorales, cardiotónicas e insecticidas. La fruta baja en colesterol y sodio, rica en fibra, vitamina B6, vitamina C y potasio. El uso tradicional de la chirimoya como antimicrobiano e insecticidas y en el tratamiento del dolor de estómago y las úlceras pancreáticas. La corteza se usa para la diarrea, para el dolor de muelas, la raíz se puede masticar y la decocción de la raíz se puede usar para tratar la fiebre. La decocción de las hojas se puede usar para tratar gusanos y las hojas se usan para curtir cuero. (Varadharaj & P., 2017)

Las acetogeninas (ACG) presentes en el género *Annona* son uno de los grupos de metabolitos secundarios más interesantes. Son policetidos y se constituyen una clase única de C35 o C37. La uvaricina, aislada en 1982 a partir de las raíces de *Uvaria acuminata* Oliv. por Jolad et al., exhibió una bioactividad excelente en ratones con leucemia linfocítica P-388, a partir de este hecho se viene realizando una amplia investigación de estas sustancias naturales. Estos metabolitos tienen muchas actividades biológicas, sobretodo en sus propiedades anticancerígenas. Hasta ahora se ha demostrado que algunas variaciones en su columna vertebral, incluido su sistema THF, el tipo de lactona terminal, el número y posición de sus hidroxilos y su estereoquímica son importantes en su actividad biológica. En general, se ha confirmado que los ACG con bis-THF (T-C) adyacente y un anillo de metil γ -lactona α , β insaturado fueron más activos que aquellos con grupos no adyacentes o con el anillo β -hidroxil metil γ -lactona grupo (L-C). Debido a esto, se necesita un mayor estudio de la correlación entre su estructura y su actividad. Otros estudios modernos

han profundizado en métodos de formulación novedosos, distintos del codisolvente habitual, para aplicarlos con éxito en la puesta a disposición de las ACG. Entre ellos, las nanopartículas poliméricas (NP) y la síntesis de micelas (SMPM) han arrojado resultados prometedores con respecto a la modulación de la entrega de ACG, su estabilidad y su solubilidad en agua. Como la cantidad de acetogeninas de *Annona cherimola* Mill es baja, un profundo conocimiento de estos requisitos estructurales debe ocasionar el desarrollo de derivados sintéticos y más eficientes. Varios científicos han centrado sus estudios en la síntesis de miméticos y derivados, pero hasta ahora ninguno ha superado los perfiles citotóxicos y antitumorales de los compuestos individuales naturales. No obstante, la sustancia AA005, imitador de la bullatacina, se ha sintetizado a escala de gramos y también sus resultados in vivo son muy buenos. Además, incorporar azúcares en la acetogenina natural abre el camino para aumentar la hidrosolubilidad de estos compuestos, lo cual mejoraría algunas de sus propiedades fisicoquímicas de manera conveniente. A pesar del antiguo y popular consumo de la fruta fresca y otros productos alimenticios derivados de esta planta, se requerirían más estudios para determinar dosis de consumo que sea segura, así como una metodología eficiente de aislamiento y administración que permita el beneficio de un uso médico. (Durán et al., 2021)

En la actualidad se sabe que el estrés oxidativo podría ser el agente etiológico involucrado en un gran número de enfermedades. Se conoce que la presencia de especies oxígeno reactivas (ERO) en concentraciones bajas son importantes y fundamentales para el funcionamiento celular; para mantener la homeostasis del organismo hay mecanismos antioxidantes endógenos, además hay moléculas antioxidantes exógenas que contribuyen a mantener una baja concentración de radicales libres de ERO. Una producción excesiva de ERO o la inhibición de las vías antioxidantes endógenas ocasionan en el organismo un estado de estrés oxidativo, que ocasiona la pérdida de la homeostasis celular y por lo tanto el riesgo de contraer enfermedades que afectan la calidad de vida y que podría poner en algunas ocasiones en riesgo la vida. (Ortiz Escarza & Medina López, 2020).

Los radicales libres (RL) como las ROS son producidas por el metabolismo aeróbico normal. El transporte de electrones en la membrana interna mitocondrial, la NADPH oxidasa, los peroxisomas, el óxido nítrico sintetasa desacoplada y el sistema de citocromos P450 son fuentes importantes de producción de ROS. El desequilibrio entre la generación de las ROS y los sistemas antioxidante en los seres vivos provocan alteraciones en la función celular y producen daño. Este desequilibrio es ocasionado por una mayor producción de ROS o una reducción de los sistemas antioxidantes. Las acciones de neutralización y eliminación de las ROS son realizadas por varias enzimas (catalasas, superóxido dismutasas, y glutatión peroxidasas) y por compuestos no enzimáticos, como vitamina E, ascorbato, ceruloplasmina, glutatión, transferrina, etc. Las ROS participan como moduladores de las funciones celulares. A concentraciones bajas, las ROS participan en la señalización celular, en la inducción de la respuesta mitogénica, en la defensa contra agentes infecciosos y el exceso de las ROS alteran la función celular normal y ocasionan daño irreversible a los fosfolípidos, a proteínas y ácidos nucleicos celulares. Las ROS, como el H_2O_2 , funcionan como moléculas mensajeras al sufrir modificación oxidativa en las proteínas de señalización. El balance entre producción de las ROS y su eliminación ocurre en una célula normal y el desequilibrio genera estrés oxidativo con consecuencias patológicas. (Carvajal Carvajal, 2019)

Los radicales libres pueden ser átomos o grupos de estos con un electrón libre o desapareado con una alta capacidad de aparearse. Estos radicales libres se movilizan en los organismos en busca de electrones de moléculas estables para alcanzar su estabilidad electroquímica. Cuando el RL consigue el electrón que necesita para aparear su electrón libre, la molécula que cedió tal electrón se convierte en RL, iniciando de esta manera una reacción en cadena que daña las células. El tiempo de vida media del RL es de microsegundos; tiempo suficiente para reaccionar con alguna molécula que esté a su alrededor, ocasionando daño, especialmente a las membranas celulares. Los RL no son intrínsecamente dañinos, el organismo los produce en

cantidades adecuadas y los utiliza para eliminar bacterias y virus. (Hernández Guerra et al., 2020)

Las enfermedades crónico-degenerativas en la actualidad es un problema de salud pública de una alta relevancia, debido al incremento de estas a edades tempranas y son las complicaciones las que ocasionan una mayor demanda de atención en centros de la salud en México. En las patologías crónico-degenerativas, como en otras patologías, el estrés oxidativo está implicado activamente en el desarrollo de la enfermedad, por lo que se hace necesario identificar su origen, evolución e impacto en las actividades biológicas que originan los padecimientos y con ello establecer las medidas de prevención y/o control, para mejorar el estado de salud de los seres humanos, al controlar los tipos de estrés oxidativo. (Gutiérrez Hernández et al., 2018)

Los antioxidantes de origen natural son sustancia que por lo general forma parte de los alimentos que se consumen a diario y que puede prevenir los daños que originan el exceso de especies reactivas en las reacciones bioquímicas normales de las células del organismo de las personas. Las propiedades de los antioxidantes se deben estudiar dentro de los organismos vivos y también en el deterioro oxidativo que sufren los alimentos; se utilizan en la industria de alimentos para proteger a las grasas u otros productos para atenuar los procesos de oxidación y prevenir el comienzo de la rancidez oxidativa en las grasas. (Coronado H et al., 2015)

Los RL en los organismos vivos se forman como parte de un proceso natural, tan necesario como la formación de colágeno o la fagocitosis, ya que forma parte de los mecanismos homeostáticos.

El equilibrio entre los RL y los antioxidantes debe mantenerse para evitar la producción de más radicales, porque esto podría ocasionar diversas patologías (Diabetes, cáncer, hipertensión, aterosclerosis). Las técnicas más utilizadas para cuantificar la capacidad antioxidante “in vitro” e “in vivo” son: para la capacidad antioxidante total los métodos: ORAC, FRAP, TEAC, TRAC, DPPH; y para la capacidad antioxidante específica los métodos enzimáticos: SOD, CAT, GP, GR; y los

no enzimáticas como glutatión, vitaminas C y E. Hoy en día se siguen buscando mejorar los métodos para cuantificar la capacidad antioxidante de muestras biológicas. Hay que recordar que la mejor forma de disminuir el riesgo de desarrollar patologías crónicas es llevar estilos de vida saludable. (Huet Breña, 2017)

El ensayo DPPH se practica de forma rutinaria para la evaluación de la capacidad antioxidante de ciertas sustancias obtenidas de plantas medicinales y de esta forma saber su capacidad para controlar la agresividad de los RL, se considera que es uno de los métodos colorimétricos estándar y sencillos para la evaluación de las propiedades antioxidantes de los compuestos puros. Aunque este radical tiene similitudes limitadas con los radicales peroxilo, este ensayo se usa comúnmente para medir el contenido de antioxidantes del grano y salvado de trigo, vegetales, ácidos linoleicos conjugados, hierbas, aceites de semillas comestibles y harinas en diferentes sistemas de solventes, incluidos etanol, acetona acuosa, metanol, alcohol acuoso y benceno (Cheng, Moore y Yu, 2006). DPPH es un radical estable en solución y aparece de color púrpura absorbiendo a 515 nm en metanol. Este ensayo se basa en el principio de que DPPH acepta un átomo de hidrógeno (H) de la molécula secuestrante, es decir, un antioxidante, lo que da como resultado una reducción de DPPH a DPPH₂, el color púrpura cambia a amarillo con una disminución concomitante de la absorbancia a 515 nm. El cambio de color se controla espectrofotométricamente y se utiliza para la determinación de parámetros de propiedades antioxidantes. Este método fue conceptualizado por Blois (1958) en el que se demostró por primera vez la capacidad de aceptación del átomo de H de un radical libre estable DPPH de la molécula de cisteína. Después de aproximadamente tres décadas, este ensayo ha llamado la atención para la caracterización de propiedades antioxidantes. El procedimiento de ensayo DPPH original ha sido adoptado en diferentes laboratorios, pero con modificaciones por conveniencia. Un estudio detallado de la literatura reveló que la mayoría de los estudios se basan en un tiempo de reacción fijo que oscila entre 20 y 30 minutos en lugar del tiempo de reacción total que en realidad se requiere para alcanzar el estado estacionario para completar esta reacción redox. Por lo tanto, el

ensayo de DPPH parece de naturaleza simple, pero debido a su radical de nitrógeno estable y muchos antioxidantes pueden reaccionar con diferentes cinéticas o pueden no reaccionar en absoluto. Además, debido a la reversibilidad de la reacción entre el DPPH y el antioxidante, la reducción del radical no se deberá completamente al antioxidante, ya que el DPPH₂ se convertirá en la forma DPPH debido a la reversibilidad. Por lo tanto, la reversibilidad de la reacción puede dar lugar a una lectura baja de la capacidad antioxidante de muchos antioxidantes. (Mishra et al., 2012).

Justificación de la investigación

Esta investigación se justifica porque busca la aplicación de la teoría y los conceptos básicos sobre los conocimientos y nos permite evaluar la capacidad antioxidante de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” y realizar nuestra contribución al aumento de la información sobre una de las propiedades farmacológica, como es la actividad antioxidante, y obtener más evidencia científica y dejar abierta la posibilidad de poder formular, por lo menos, nutraceuticos eficaces, seguros y de calidad, como un producto terapéutico de origen natural complementario en el tratamiento de enfermedades degenerativas causadas por radicales libres y la presencia de estrés oxidativo.

También se justifica de manera metodológica, ya que pondrá a disposición un instrumento para recolectar información relacionada a determinar las moléculas bioactivas y su capacidad antioxidante en extractos de hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”.

La justificación social es debido a que permitirá ofrecer una alternativa de tratamiento al alcance de la población, ya que los productos medicinales y las terapias son muy costosas, las personas que podrían verse beneficiadas forman parte del grupo de pacientes con enfermedades crónico-degenerativas, tales como diabetes, cáncer, artritis, enfermedades autoinmunes, etc.

Problema

¿Cuál es la capacidad antioxidante y que metabolitos secundarios se encuentran en las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad?

Conceptuación y operacionalización de las variables

Definición conceptual de la variable	Dimensión	Indicador	Escala
<p>Extracto de las hojas de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya”. Resultado logrado mediante el proceso de extracción en caliente a partir de las hojas de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya”, utilizando etanol como agente disolvente para el agotamiento gradual de los componentes. Este producto alberga en sí los compuestos fundamentales y activos presentes en la planta. (Duas Rodas, 2020)</p>	<p>Extractos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Acuoso • Etanólico • Clorofórmico 	<p>Concentración % p/v:</p> <p>Extracto acuoso Extracto etanólico Extracto clorofórmico</p>	Ordinal
<p>Metabolitos secundarios. Compuestos orgánicos que no muestran una relación inmediata con las funciones metabólicas esenciales de la planta. Los MS desempeñan varios roles vinculados a la planta y su entorno. Atraer a polinizadores. Son pigmentos en flores y frutos. (Sepúlveda-Vázquez et al., 2018)</p>	<p>Metabolitos polares</p> <p>Metabolitos medianamente polares</p> <p>Metabolitos no polares</p>	<p>Desarrollo de:</p> <p>Precipitado</p> <p>Coloración</p> <p>Espuma</p> <p>Se considera positivo</p>	Nominal
<p>Capacidad antioxidante. Es la habilidad de los compuestos antioxidantes (donantes de un hidrógeno o un electrón) presentes en una muestra para reducir las especies oxidantes introducidas en el sistema de ensayo. (Quintanar Escorza & Calderón Salinas, 2009)</p>	<p>Absorbancias</p> <p>Porcentaje de Inhibición</p> <p>IC50</p> <p>AAR</p>	<p>Valor entre 0 – 2</p> <p>Valor entre 1 – 100</p> <p>Valor adimensional</p> <p>Valor adimensional</p>	De intervalo

Hipótesis

Basados en la bibliografía pertinente, los extractos de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”, dentro de su composición química, tienen sustancias polifenolicas y por lo tanto sus extractos deben mostrar una buena actividad antioxidante.

Objetivos

Objetivo general:

Determinar la capacidad antioxidante de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal- ¿La Libertad, mediante el método DPPH

Objetivos específicos:

1. Determinar los parámetros de calidad de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad.
2. Determinar los parámetros de calidad de los extractos de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad.
3. Identificar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad.
4. Determinar la capacidad antioxidante de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad.

6 Metodología

a) Tipo y diseño de investigación

Tipo de investigación:

La presente investigación es del tipo básica, pues los resultados obtenidos contribuyen a incrementar el conocimiento de las variables en estudio (metabolitos secundarios y capacidad antioxidante) aportando información con potencial utilidad para futuras investigaciones. (Rodríguez, 2020, s/p).

Diseño de investigación:

Este estudio se circunscribe en el diseño de investigación descriptivo simple que consiste en determinar el parámetro a evaluar sin influir sobre él. Este diseño se puede representar de la siguiente manera.



Dónde:

Muestra: Extracto de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”

Observación: Resultado de realizar cada prueba.

b) Población, muestra y muestreo

Población:

Considerando que la investigación se refiere a una característica de las flores de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”, entonces se puede decir que la población en estudio estaría conformada por todas las plantas del distrito de Simbal en la Provincia de Trujillo.

Criterios de Inclusión:

- Se recolectarán las ramas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” en los campos cercanos a la ciudad de Simbal, distrito y provincia de Trujillo - La Libertad.
- Se recolectarán las ramas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” cuyas hojas se observen en buen estado.
- Se recolectarán ramas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” cuyas hojas no muestren signos de haber sido atacados por plagas.

Criterios de Exclusión:

- Las ramas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” cuyas hojas se observen en mal estado.
- Las ramas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” que se encuentren fuera de la zona de recolección.

Muestra:

6 kilos de ramas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”

c) Técnicas e instrumentos de investigación:**Recolección de la especie vegetal**

Se recolectaron las ramas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” cuyas hojas se observen en buen estado, en las huertas aledaños a la ciudad de Simbal, en la Provincia de Trujillo en el departamento de la Libertad.

Selección

Una vez obtenidas las ramas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” cuyas hojas se observen en buen estado, se procedió a hacer la selección de las hojas, retirando aquellas que presentan algún defecto y escogiendo las que se observan en mejor estado.

Identificación taxonómica

La determinación taxonómica la realizó un profesional competente especialista, llevando una rama de la planta que tenga flor y hojas.

Obtención de los extractos de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”

- 10 g de polvo grueso de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” se colocarán en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. de un equipo de reflujo.
- 100 mL de solvente (etanol, agua y cloroformo) se colocarán dentro del matraz Erlenmeyer de 250 mL.
- Luego se someterá a reflujo durante 15 min.
- El extracto obtenido se filtrará al vacío
- El extracto obtenido se colocará en un frasco ámbar perfectamente identificado como extracto acuoso, extracto etanólico y extracto clorofórmico.

Evaluación fitoquímica preliminar de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”

La determinación de metabolitos secundarios presentes en cualquiera de los extractos se realizó bajo la metodología de Miranda & Cuellar, 2000. Se realizaron principalmente, las siguientes pruebas: Borntrager, Dragendorff, Mayer, ensayo de resinas, Ninhidrina, Fehling, Ensayo de antocianinas, Ensayo de Baliet, Liebermann-Burchart y Tricloruro Férrico. (Ver anexo)

Determinación de la capacidad antioxidante de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”.

La determinación de la capacidad antioxidante se realizó por el método del DPPH (Ver anexo)

d) Procesamiento y análisis de la información

Los resultados serán procesados mediante métodos de estadística descriptiva usando promedios \pm desviación estándar haciendo uso del Excel de Microsoft.

7 Resultados

Tabla 1

Clasificación de la hoja de Annona cherimolla L. “chirimoya”

Criterio	Tipo
Forma de la lámina	Ovado-lanceoladas
Base	Acorazonada
Ápice	Redondeado
Borde	Entero
Textura del Limbo	Pubescente
División del limbo	Hoja simple
Nervaduras	Pinnada
presencia de peciolo	Peciolada
Posición	Alternas

Como en la elaboración de cualquier producto destinado al consumo humano, en la tabla 1 se muestra todas las características de la materia prima, que para nuestra investigación está constituida por las hojas de la especie vegetal *Annona cherimolla* L., conocida en el acervo popular como chirimoya en nuestra localidad. Esta primera tabla solamente muestra las clasificaciones de la hoja desde el punto de vista de la Botánica Farmacéutica, encuadrada dentro de la Botánica general.

Tabla 2

Características organolépticas y físicas de la hoja de Annona cherimolla L. "chirimoya"

Criterio	Resultado
Color del Haz	Verde oscuro
Color del envés	Verde claro
Olor	Sui generis
Sabor	Amargo
	Rugosa
Textura del Limbo	Aterciopelada
	Dura
	Coriácea
Humedad	65%
Cenizas totales	13.16 g%

Mientras que en la tabla 1 se muestra la tipificación de la hoja, en la tabla 2 se presentan las características organolépticas y algunas propiedades físicas de las hojas de *Annona cherimolla* L., donde cabe resaltar que son hojas con un alto contenido de agua de 65 % y con una cantidad porcentual de cenizas totales de 13.16 %.

Tabla 3

Evaluación organoléptica y de caracteres físicos de los extractos acuoso, etanólico y clorofórmico de las hojas de Annona cherimolla L. “chirimoya”

Criterio	Extracto acuoso	Extracto etanólico	Extracto clorofórmico
Color	Castaño	Marrón	Tabaco
Olor	Inodoro	Etanólico	Clorofórmico
Sabor	Amargo	Astringente	Suigeneris
Aspecto	Transparente	Transparente	Transparente
Textura	Fluido	Fluido	Fluido
pH	6.5	5.8	
Densidad	0.988 g/mL	0.962 g/mL	1.256 gg/mL
Índice de refracción	1.265	1.258	1.356
Sólidos extraíbles	2.2	2.87	0.88

En la tabla 3 se muestran los resultados del análisis organoléptico y de las propiedades físicas de cada uno de los extractos sometidos a estudio. Tal y como era de esperarse los caracteres organolépticos se ven influenciados por el tipo de solvente, hecho que también se da con los caracteres físicos. Solamente hay que destacar que no se determinó el pH del extracto clorofórmico porque sería innecesario, pues el cloroformo al ser un solvente orgánico no debe tener iones hidrogeno para ser medidos con el pHmetro.

Tabla 4

Metabolitos secundarios presentes en las hojas de Annona cherimolla L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad.

En la	Ensayo	Compuesto	Extracto acuoso	Extracto etanólico	Extracto clorofórmico	tabla
4, se	Sudan	Aceites y Grasas	-	+	+	
	Baljet	Lactonas y Cumarinas	-	-	+	
	Liebermann-Buchard	Triterpenos-Esteroides	-	-	++	
	Wagner		+	+	-	
	Hager	Alcaloides	+	+	-	
	Dragendorf		+	+	-	
	Fehling	Azucares reductores	+	+	-	
	Espuma	Saponinas	-	-	-	
	Tricloruro Férrico	Taninos y Fenoles	++	++	-	
	Borntrager	Quinonas	+	+	-	
	Shinoda	Flavonoides	++	++	-	
	Antocianidina	Antocianidina	-	-	-	

muestran los resultados del análisis fitoquímico de los 3 extractos obtenidos a partir de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad. En la tabla se pueden observar que los compuestos determinados en el extracto acuoso son los mismos que los determinados en el extracto etanólico, aclarando que en este último hay 1 compuesto más que es la presencia de aceites fijos. En el extracto clorofórmico hay solamente 3 compuestos

Tabla 5*Actividad antioxidante del Ácido Ascórbico*

Concentración Ácido Ascórbico	Absorbancia ($\bar{x} \pm DS$)	Captación DPPH (%)
0	0.7474 + 0.0097	0
0.6	0.6622 ± 0.0155	11.4
1.25	0.5364 ± 0.0056	28.23
3.75	0.3254 ± 0.00837	56.46
5	0.1273 ± 0.001022	82.97
6.25	0.0521 ± 0.00149	93.03

En la tabla 4 se muestran las absorbancias de 6 muestras de DPPH, después de haberles adicionado diferentes cantidades de Ácido ascórbico que es el antioxidante de referencia para el presente trabajo de investigación. Debemos aclarar que la primera muestra corresponde al DPPH puro, sin adición de ninguna muestra. En la tabla se observa que la absorbancia disminuye de 0.7474 hasta 0.0521 de acuerdo con el aumento de la concentración de las muestras. En la misma tabla también se muestra como el porcentaje de captación del radical libre DPPH aumenta con el aumento de la concentración de las muestras.

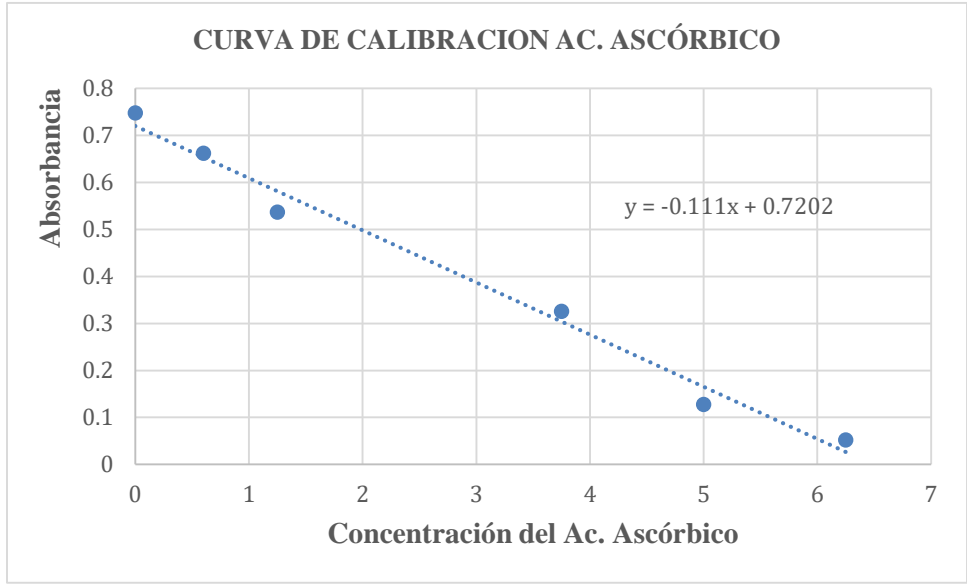


Figura 1. Curva de calibración de la actividad antioxidante del Ácido Ascórbico frente al DPPH

En la figura 1 se muestra la curva de calibración de la actividad antioxidante del Ácido Ascórbico frente al DPPH.

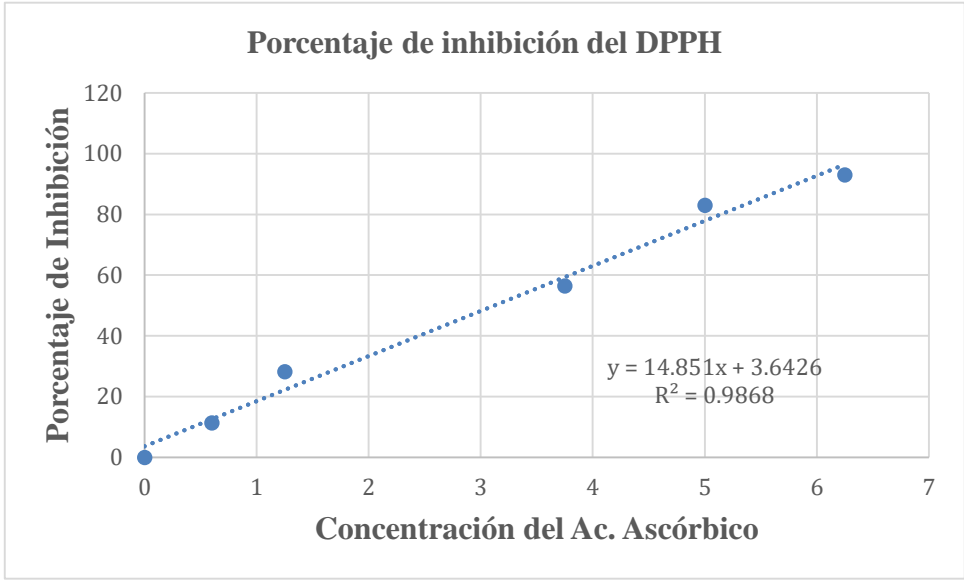


Figura 2. Porcentaje de inhibición del radical DPPH por el Ácido Ascórbico

En la figura 1 se muestra el porcentaje de inhibición del radical DPPH por el Ácido Ascórbico.

Tabla 6

Captación porcentual del DPPH por el extracto acuoso de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad.

Concentración Extracto acuoso	Absorbancia ($\bar{X} \pm DS$)	Captación DPPH (%)
0	0.7474 + 0.0097	0
0.6	0.6874 ± 0.0188	8.03
1.25	0.5884 ± 0.0156	21.27
3.75	0.3923 ± 0.0236	47.51
5	0.1634 ± 0.0122	78.14
6.25	0.0888 ± 0.0145	88.12

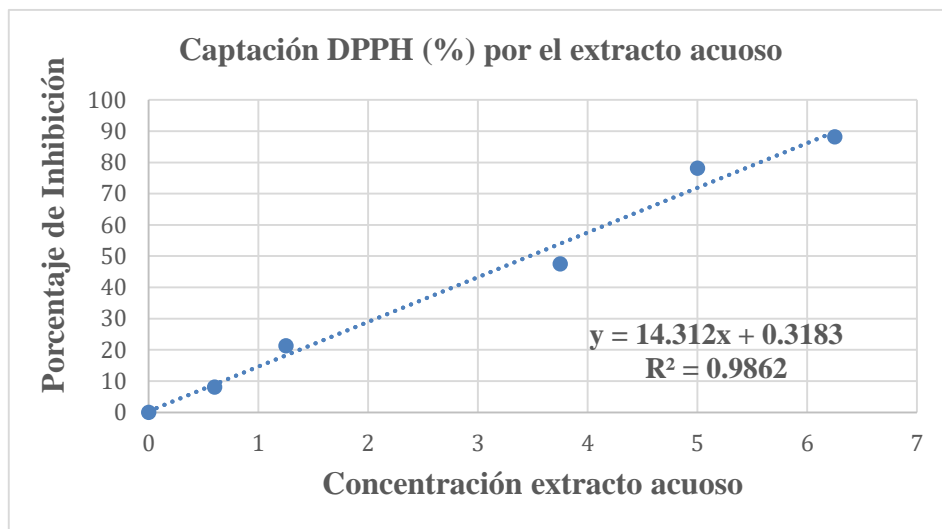


Figura 3. Relación entre el Porcentaje de inhibición y la concentración del extracto acuoso de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”

En la tabla 5 y en la figura 3 se muestra de manera porcentual la captación del radical libre DPPH por extracto acuoso de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad.

Tabla 7

Captación porcentual del DPPH por el extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad.

Concentración Extracto acuoso	Absorbancia ($\bar{x} \pm DS$)	Captación DPPH (%)
0	0.7474 + 0.0097	0
0.6	0.6522 ± 0.0201	8.03
1.25	0.5262 ± 0.0185	21.27
3.75	0.2858 ± 0.0187	47.51
5	0.1988 ± 0.0168	78.14
6.25	0.0664 ± 0.0195	88.12

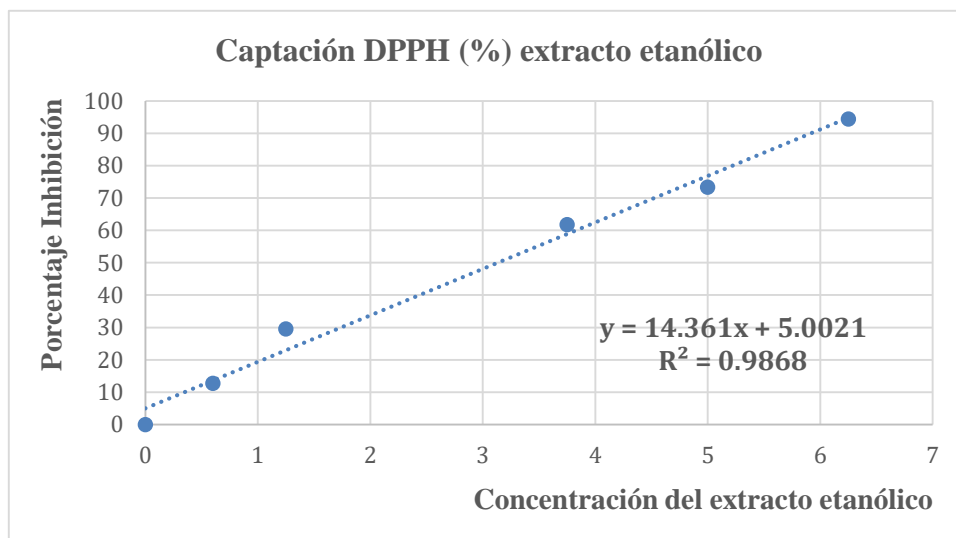


Figura 4. Relación entre el Porcentaje de inhibición y la concentración del extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”

En la tabla 6 y en la Figura 4 se muestra de manera porcentual la captación del radical libre DPPH por el extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad.

Tabla 8

Concentración inhibitoria 50 (IC50) y actividad antioxidante relativa (AAR) del extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”

Muestra	IC50	% AAR
Ácido ascórbico	3.12	100
Extracto acuoso de las hojas de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya”	3.47	111.22
Extracto etanólico de las hojas de <i>Annona cherimolla</i> L. “chirimoya”	3.13	100.32

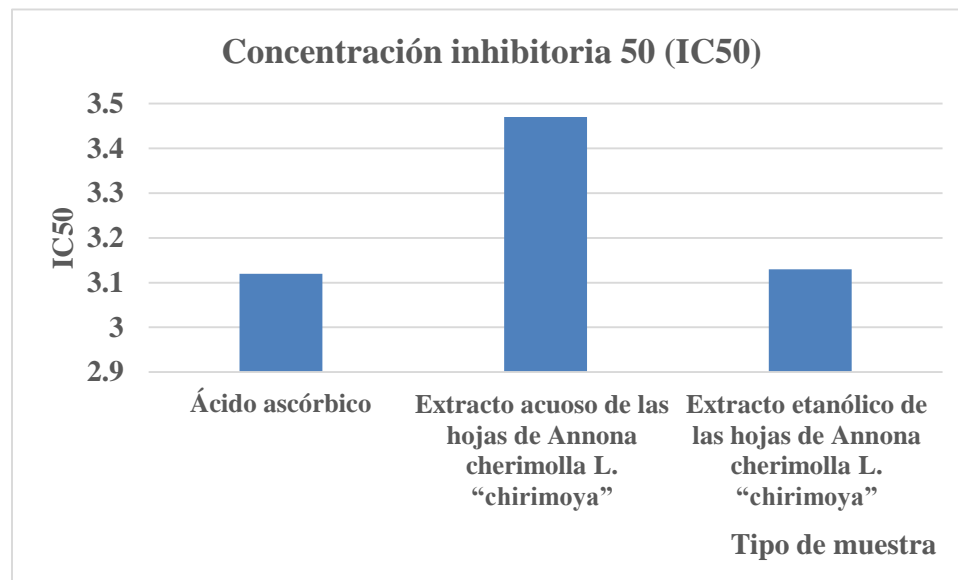


Figura 5. Concentración inhibitoria 50 (IC50) del Ácido ascórbico, extracto acuoso y extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”

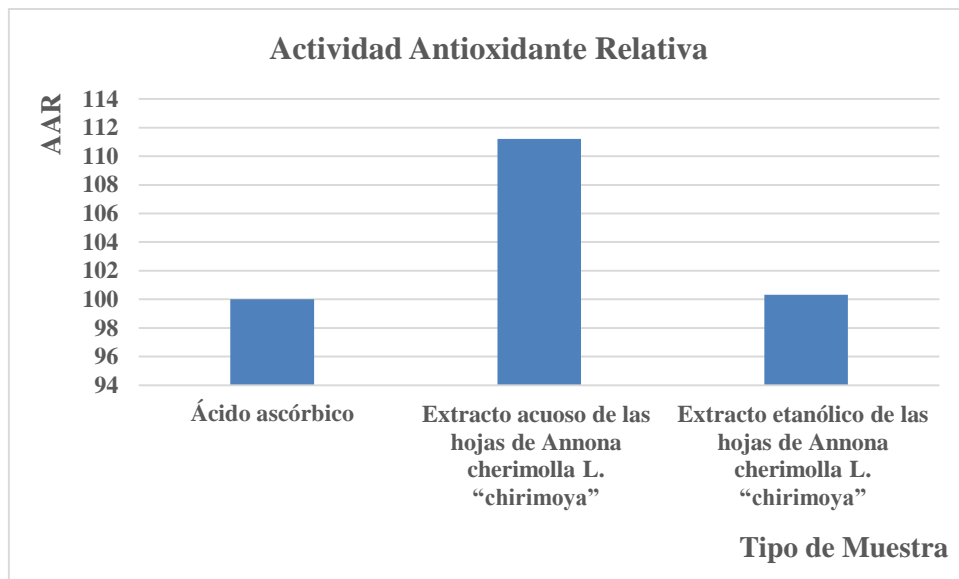


Figura 6. Actividad Antioxidante Relativa del Ácido ascórbico, extracto acuoso y extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. "chirimoya"

En la tabla 7 y sus respectivas figuras 5 y 6 se muestran la IC50 y AAR para el ácido ascórbico (patrón) y para los extractos acuoso y etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. "chirimoya". Tanto en la tabla como en los gráficos se puede observar que el extracto etanólico tiene una actividad similar a la del Ácido ascórbico.

8 Discusión

El objetivo de nuestra investigación fue determinar la actividad antioxidante de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente del pueblo de Simbal en la Región La Libertad, encontrándose:

Tal y como se muestra en las tablas 1 y 2, como primera actividad realizamos una clasificación de las hojas de la planta en estudio y también la determinación de las características organolépticas y físicas de las hojas respectivamente. Como en nuestro estudio se trabajó solamente con las hojas, entonces, los resultados fueron que la forma del limbo de las hojas de la especie vegetal en estudio varía entre ovado y lanceolada, su base es acorazonada y su ápice es redondeado mayormente, el borde de las hojas es entero y que según sus nervaduras son pinnadas. Al tacto el limbo de las hojas no es liso, sino que es Pubescente, es decir se siente como si tuviera vellos. Además, es una hoja simple pues no hay división del limbo, es una hoja peciolada y de acuerdo a su posición sobre la rama es alterna (Pérez Vásquez et al., 2019). Las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” tienen el haz de color verde oscuro y el envés verde claro (característica comuna la mayoría de las plantas superiores), su olor es característico y como la mayoría de las hojas es de sabor amargo. Al tacto se siente como cuando se toca un terciopelo y es una hoja con cierta dureza; pero también es coriácea, pues es bastante flexible pero no se destruye. Después de ser sometidas al proceso de secado muestran que el 65 % de la hoja es agua y cuando se calcinan en la mufla a 700 °C las cenizas totales están alrededor del 13.16 %. (Miranda Martínez & Cuellar Cuellar, 2000).

En la tabla 3, se muestran en conjunto los caracteres organolépticos de los 3 extractos. Los extractos muestran color diferente; pero muestran tonalidades del mismo color, la cual depende del color final de la hoja después de ser secada y luego durante la extracción por reflujo.

De tal manera que el extracto acuoso es castaño, el extracto etanólico es marrón y el extracto clorofórmico vuelve a decolorarse un poco y es un color definido como tabaco, todo esto por la cantidad de materia extraída y por acción del calor.

En cuanto al olor este depende del solvente, lo que redundaría en el sabor de los extractos, pues el extracto acuoso se percibe amargo y el extracto etanólico se percibe como astringente debido al alcohol y el sabor del extracto clorofórmico pues se siente un sabor a solvente orgánico. Los 3 extractos son fluidos y transparentes, lo cual es lo que se espera. El pH fue ligeramente ácido y solo se determinó en el extracto acuoso y en el extracto etanólico por razones obvias pues en extracto clorofórmico no tiene ninguna utilidad basados en la naturaleza química del solvente, pues el cloroformo no tiene un pH específico porque no es una solución acuosa y no produce iones hidronio (H_3O^+) o hidroxilo (OH^-) en agua como lo hacen los ácidos o las bases. En cuanto a la densidad los extractos acuoso y etanólico mostraron tener una densidad menor que la del agua, esto es lo que se espera pues en el caso del etanol su densidad es aproximadamente 0.789 g/cm^3 cuando se encuentra en su forma más común, que es el etanol anhidro (sin agua), con una concentración de aproximadamente el 100%; y en cuanto al extracto clorofórmico, sabemos que la densidad del cloroformo puede variar; pero es aproximadamente 1.49 g/cm^3 . El índice de refracción del extracto acuoso es 1.265, del extracto etanólico es 1.251 y del extracto clorofórmico es de 1.356. Estos valores son bastante compatibles si consideramos los datos teóricos por muchos años aceptados como son que el índice de refracción del agua es aproximadamente 1.333, del etanol anhidro este alrededor de 1.36 y del cloroformo puro puede estar entre 1.443 a 1.447. Finalmente, el ensayo de sólidos extraíbles nos muestra que el extracto etanólico es el solvente de mejor extracción pues la concentración del extracto fue de 2.87 g%, seguido del extracto acuoso con un 2.2 % y del extracto clorofórmico es de 0.88 g %.

En la tabla 4, mostramos los resultados del tamizaje fitoquímico. En esta tabla se puede advertir que en el extracto acuoso se identificaron 7 tipos de compuestos

químicos o metabolitos secundarios y en el extracto etanólico se identificaron 8 tipos de sustancias, de las cuales los 7 metabolitos secundarios son las mismas del extracto acuoso, salvo el octavo que posiblemente es un aceite, una grasa o un aceite esencial detectado mediante el ensayo del sudan.

En el extracto clorofórmico se detectaron 3 sustancias, las cuales podrían ser Lactonas, cumarinas, esteroides, terpenos, aceites o grasas; resaltando que la prueba de Liebermann-Buchard fue fuertemente positiva. Estos resultados son compatibles con lo reportado en la revisión sobre la farmacología y fitoquímicos de la *Annona reticulata* L. la cual pertenece al mismo género que *Annona cherimolla* L., se reproduce en condiciones silvestres. En esta revisión reportan que, en sus hojas, raíces, corteza de los tallos, en sus semillas y en la pulpa del fruto se han encontrado compuestos fitoquímicos, tales como taninos, alcaloides, fenoles, glucósidos, terpenos, flavonoides y esteroides. También se afirma que estas sustancias exhiben propiedades farmacológicas como antihelmínticos, analgésicas, antiinflamatorias, antihiper glucémicas, antioxidantes y citotóxicas para algunos tipos de cáncer. La pulpa del fruto contiene azúcares, vitaminas y minerales. (Pérez-Flores et al., 2023)

En la tabla 4, se muestran los resultados de la evaluación del comportamiento del Ácido ascórbico frente al radical libre estable DPPH. Tal y como se detalla en la tabla el valor de la absorbancia de la solución de DPPH disminuye con el aumento de la concentración de la solución de Ácido ascórbico; pero el porcentaje de captación del radical libre DPPH aumenta en razón directamente proporcional con el aumento de la concentración de Ácido ascórbico. Con estos datos se pudo construir la curva de calibración para la sustancia patrón que es el Ácido ascórbico, curva que se muestra en el Figura 1, graficando concentración VS absorbancia; pero, en la tabla 4 también se consignan los datos calculados matemáticamente para determinar el porcentaje de captación del radical libre DPPH por cada una de las soluciones de ácido ascórbico, datos que son graficados y presentados en la Figura 2, en donde también se presenta la ecuación de la recta y con la cual se pudo calcular la IC₅₀ de la sustancia patrón. En

los estudios de actividad antioxidante, se utilizan varias sustancias patrón o compuestos de referencia para determinar la capacidad antioxidante de diferentes muestras. Algunas de las sustancias patrón más comunes incluyen el Trolox que es un análogo hidrosoluble de la vitamina E, se utiliza también el Ácido ascórbico (vitamina C) porque es un antioxidante soluble en agua ampliamente conocido y se utiliza como patrón en varios ensayos antioxidantes. Otro compuesto químico muy utilizado es el BHT (butilhidroxitolueno) que es un antioxidante sintético que se utiliza como conservante en alimentos y productos cosméticos. Se utiliza en estudios de antioxidantes debido a su capacidad para prevenir la oxidación. Otro compuesto muy utilizado es la Quercetina, la cual es un flavonoide natural presente en muchas plantas y alimentos y se utiliza como patrón en estudios de antioxidantes debido a su buena actividad antioxidante. Otro compuesto bastante utilizado es el Galato de epigallocatequina (EGCG) que es un polifenol presente en el té verde y se utiliza en investigaciones antioxidantes debido a sus propiedades antioxidantes. (Rojas Vega, 2019)

En la tabla 6, se muestra el porcentaje de captación del radical libre DPPH por las distintas concentraciones del extracto acuoso de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”. Estos resultados nos permitieron construir la Fig. 3, donde también se registra la ecuación $y = 14.312X + 0.3183$, que es la ecuación de la recta que relaciona porcentaje de inhibición vs concentración. Con esta se pudo obtener la IC50 y la AAR para el extracto acuoso de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” valores que se muestran en la tabla 8 y en las figuras 5 y 6.

En la tabla 7, se muestra el porcentaje de captación del radical libre DPPH por las distintas concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”. Estos resultados nos permitieron construir la Fig. 4, donde también se registra la ecuación $y = 14.361X + 5.0021$, que es la ecuación de la recta que relaciona porcentaje de inhibición vs concentración. Con esta se pudo obtener la IC50 y la AAR

para el extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” valores que se muestran en la tabla 8 y en las figuras 5 y 6.

El análisis de los resultados presentados en las tablas 5, 6 y 7, se observa que la captación del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), por el ácido ascórbico, por el extracto acuoso y por el extracto alcohólico de las *Annona cherimolla* L. “chirimoya” al ejecutar el ensayo DPPH aumenta conforme aumenta la concentración del cualesquiera de los extractos en evaluación. En la tabla 5 se observa que el porcentaje de captación de radicales DPPH por el ácido ascórbico se incrementa desde el 11.4 % hasta 93.03 % para concentraciones de 0.6 mg/L y 6.25 mg/L respectivamente. Lo mismo sucede con la actividad del extracto acuoso de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” pues con la muestra al 0.6 mg/L el porcentaje de captación del radical libre DPPH es de 8.03 % y con la muestra al 6.25 mg/L la captación porcentual es de 88.12 % como se muestra en la tabla 6. De igual manera ocurre con el extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” pues con la muestra al 0.6 mg/L el porcentaje de captación del radical libre DPPH es de 12.74 % y con la muestra al 6.25 mg/L la captación porcentual es de 94.50 % como se muestra en la tabla 7.

De la comparación de los resultados antes mencionados podemos inferir que a cantidades iguales (6.25 mg/mL) de ácido ascórbico y extracto acuoso de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” la actividad antioxidante porcentual es menor 93.0 % vs 88.12 % respectivamente. En cambio, el extracto etanólico a la concentración de 6.25 mg/mL tiene una actividad antioxidante mayor que la actividad antioxidante de la sustancia patrón que es el Ácido ascórbico. Resultado que en términos prácticos el extracto etanólico, como antioxidante es mejor que el ácido ascórbico en este estudio.

El poder antioxidante de los extractos acuoso y etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” se debe a la presencia de sustancias con demostrada actividad antioxidante, como polifenoles, flavonoides, taninos, quinonas, alcaloides,

etc cuya presencia se confirmó mediante el screening fitoquímico que se muestra en la tabla 4. Los compuestos fenólicos como flavonoides, antocianinas y saponinas, sumados a la presencia de quinonas y alcaloides serían los responsables de la actividad antioxidante del extracto de la planta en estudio (Yan et al, 2017).

Finalmente, en la tabla 8 y en las figuras 5 y 6 se presentan el IC₅₀ y la actividad antioxidante relativa (AAR), en donde aparentemente solo el extracto etanólico tendría una mejor actividad antioxidante que el ácido ascórbico. Primero debemos considerar que de las 3 sustancias evaluadas el ácido ascórbico tuvo un IC₅₀ de 3.12 y AAR de 100%, el extracto etanólico mostró un IC₅₀ de 3.13 y AAR de 100.32 % y el extracto acuoso tuvo un IC₅₀ de 3.47 y AAR de 111.22 %. Al evaluar estos resultados podemos determinar que el extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” muestra una actividad antioxidante similar a la actividad antioxidante del Ácido ascórbico; en cambio los resultados obtenidos para el extracto acuoso muestran que este tiene una actividad antioxidante menor que la del Ácido ascórbico, aunque los valores aparentemente muestren lo contrario. Es así que, comparando el IC₅₀ de 3.12 del ácido ascórbico con el IC₅₀ de 3.47 del extracto acuoso, cuantitativamente 3.47 es mayor que 3.12 y esto podría interpretarse como que el extracto acuoso tiene una mejor actividad antioxidante; pero esto no es cierto, porque lo real es que para tener la misma actividad antioxidante se necesita más extracto acuoso, lo cual define que el extracto acuoso tiene menos actividad antioxidante que el Ácido ascórbico. Esto no sucede con el extracto etanólico, pues para tener una actividad antioxidante igual se necesita prácticamente la misma cantidad. En sentido figurado, 1 gramo de ácido ascórbico tiene la misma actividad antioxidante que 1 gramo de extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”.

Algo similar explican Echavarría y Matute (2017), que determinaron un IC₅₀ de 0,139 mg/mL y 42,4% de porcentaje de inhibición para una muestra en estudio, cercano al IC₅₀ del ácido ascórbico cuando tiene un 44% de porcentaje de inhibición. Galdino et al, (2021), presenta un porcentaje de captura de 52,21 hasta 71,39% frente al radical libre DPPH. Podemos entonces inferir que la actividad antioxidante se evalúa

a partir de la cantidad de DPPH consumida por el extracto. Por tanto, a mayor captación de radicales DPPH por la muestra, mayor será su potencial antioxidante.

A las sustancias antioxidantes y su actividad benéfica se le atribuye a la capacidad de neutralizar y romper la cadena de reacciones ocasionada por la tormenta radicalaria debido al estrés oxidativo en el organismo. Los bioactivos capaces de donar átomos de hidrógeno o electrones pueden convertir el radical libre DPPH en la forma no radicalmente reducida, esto se observa con el cambio de viraje de morado a amarillo, Reacción que se puede monitorear con el espectrofotómetro. La evaluación antioxidante mediante el radical libre estable DPPH, muestra una fuerte absorción a 520 nm, es un método ampliamente utilizado para evaluar las actividades antioxidantes in vitro en un corto tiempo y eficazmente en comparación con otros métodos ya bien conocidos Berlanga, (2019); Lin et al, (2021).

Nuestros valores encontrados son superiores a estudios descritos según autores como Antonio-Alegría et al (2021), Echavarría y Matute (2017) y Galdino et al (2021).

La cantidad de compuestos antioxidantes en una planta depende mucho del estado de maduración de la planta. Menéndez Cevallos & Burgos Briones, (2021) afirman que la fermentación afecta paulatinamente la cantidad de polifenoles, reduciéndolos en cantidad en forma dependiente al transcurso del tiempo. También nos dicen que el secado de una planta medicinal implica una fermentación residual, siendo el secado natural el que ocasiona menos pérdidas de compuestos fenólicos. Con respecto a los alcaloides nos dicen que estas sustancias no sufren transformaciones químicas con la fermentación; pero, más o menos el 30% de ellos se pierden por difusión y migración hacia el exterior del grano de cacao; aunque, no hay diferencia significativa en el contenido de teobromina y cafeína entre cacao fermentado y seco.

De acuerdo con Flores Aguilar & Flores Rivera, (2022), los principios activos se encuentran en las diversas partes de las plantas; su aislamiento y su estabilidad es un factor crucial al preparar alimentos funcionales. Evaluaron la capacidad antioxidante de extractos acuosos foliares de Moringa oleífera. Obtuvieron varios extractos acuosos, con la diferencia del método utilizado, así es como usaron técnicas de

extracción en caliente, enzimática, por ultrasonido y por microondas, con el objetivo de determinar el método de extracción más adecuado para preparar una bebida. La estabilidad del efecto antioxidante de la bebida fue estudiada por 28 días a 10, 25 y 35°C. Determinaron que la extracción en caliente a 85 °C es el método más adecuado. En el periodo evaluado, la bebida mostró características sensoriales aceptables

9 Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

1. Las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad son hojas simples, pecioladas, de nervadura pinnada, alternas, con ápice redondeado, ovado-lanceoladas, de borde entero, pubescentes al tacto, de color verde, de olor característico, de sabor amargo, con 65 % de humedad y 13.16 g% de cenizas totales.
2. El extracto acuoso de las hojas de *Annona cherimolla* L. es de color castaño, no tiene olor, es amargo, transparente y fluido. Tiene un pH de 6.5, 0.988 g/mL de densidad, 1.265 de Índice de refracción y una concentración de 2.2 g%.
3. El extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. es de color marrón, con olor a alcohol etílico, es astringente, transparente y fluido. Tiene un pH de 5.8, 0.962 g/mL de densidad, 1.258 de Índice de refracción y una concentración de 2.87 g%.
4. El extracto clorofórmico de las hojas de *Annona cherimolla* L. es de color Tabaco, olor a cloroformo, sabor característico a solvente orgánico, transparente y fluido. Tiene 1.256 g/mL de densidad, 1.356 de Índice de refracción y una concentración de 0.88 g%.
5. Los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Annona cherimolla* L. fueron flavonoide, quinonas, taninos, saponinas, alcaloides en los extractos acuoso y etanólico; y en el extracto clorofórmico se determinaron triterpenos, esteroides, lactonas y cumarinas y aceites y grasas.
6. El extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad, tiene una actividad antioxidante similar al Ácido ascórbico pues exhibe un IC50 de 3.13 similar al IC50 de 3.12 del Ácido ascórbico; en cambio el extracto acuoso de las hojas de *Annona*

cherimolla L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad, tiene una actividad menor (IC50 de 3.47) en comparación con el IC50 del Ácido ascórbico de 3.12.

Recomendaciones:

1. Se debe realizar estudios similares sobre la actividad antioxidante de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” procedente de otros lugares.
2. Se debe realizar estudios similares sobre la actividad antioxidante de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya” utilizando otras técnicas como FRAP, ORAC, etc.

10 Referencias bibliográficas

- Alvarado Mayor, P. N., & Flores, A. B. (2022). *Efecto citotóxico de la Annona muricata frente a la línea celular de adenocarcinoma gástrico* (Tesis). Universidad Científica del Sur, Lima, Lima.
- Aguilar-Villalva, R., Molina, G. A., España-Sánchez, B. L., Díaz-Peña, L. F., Elizalde-Mata, A., Valerio, E., Azanza-Ricardo, C., & Estevez, M. (2021). Antioxidant capacity and antibacterial activity from *Annona Cherimola* phytochemicals by ultrasound-assisted extraction and its comparison to conventional methods. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(7), 103239. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103239>
- Boncún de Linares, B., Zari Gil, G., Ruiz Reyes, S. G., & Soto Vásquez, M. R. (2015). Guía de Prácticas de Farmacobotánica. (E. A. Venegas Casanova, Ed.) (1st ed., Vol. 1, Ser. 1). Facultad de Farmacia y Bioquímica.
- Carvajal Carvajal, C. (2019). Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal De Costa Rica*, 36(1), 91. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1409-00152019000100091&script=sci_arttext
- Coronado H, M., Vega y León, S., Gutiérrez T, R., Vázquez F, M., & Radilla V, C. (2015). Antioxidantes: Perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena De Nutrición*, 42(2), 206–212. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182015000200014>
- Durán, A. G., Gutiérrez, M. T., Mejías, F. J., Molinillo, J. M., & Macías, F. A. (2021). An overview of the chemical characteristics, bioactivity and achievements regarding the therapeutic usage of acetogenins from *Annona Cherimola* Mill. *Molecules*, 26(10), 2926. <https://doi.org/10.3390/molecules26102926>
- Gutiérrez Hernández, R., Reyes Estrada, C. A., Martínez Rodríguez, J. L., López, J. A., & Lalalde Ramos, B. P. (2018). ESTRÉS OXIDATIVO: PROMOTOR

DE ENFERMEDADES. *Revista Electrónica Semestral En Ciencias De La Salud*, 1(1), 1–1.
<http://ricaxcan.uaz.edu.mx/jspui/bitstream/20.500.11845/2655/1/document.pdf>

Hernández Guerra, Y., Rodríguez Gómez, A., Villafuerte Reinante, J., Marrero Silva, I., & Mora Hernández, C. M. (2020). Influencia de los radicales libres en la génesis de la aterosclerosis. *Revista Finlay*, 10(2), 171–172.
<https://www.medigraphic.com/pdfs/finlay/fi-2020/fi2021.pdf>

Huet Breña, C. (2017). *Métodos Analíticos para la Determinación de Antioxidantes en Muestras Biológicas* (thesis). Universidad Complutense, Madrid.

Huayhuash Huamanchumo, R. F. (2019). *Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de hojas de Annona chirimola (chirimoya)* (thesis). Universidad Católica Los Angeles de Chimbote, Chimbote.

Lacopetta, D., Fazio, A., La Torre, C., Barbarossa, A., Ceramella, J., Francomano, F., Saturnino, C., El-Kashef, H., Alcaro, S., & Sinicropi, M. S. (2022). Annona Cherimola Mill. leaf extracts affect melanoma cells growth and progression. *Foods*, 11(16), 2420. <https://doi.org/10.3390/foods11162420>

Martín-García, B., Aznar-Ramos, M. J., Verardo, V., & Gómez-Caravaca, A. M. (2022). Development of an effective sonotrode based extraction technique for the recovery of phenolic compounds with antioxidant activities in cherimoya leaves. *Plants*, 11(15), 2034. <https://doi.org/10.3390/plants11152034>

Miranda Martínez, M., & Cuellar Cuellar, A. (2000). *Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales* (1st ed., Vol. 1, Ser. 1). Universidad de la Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos.

Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food*

Chemistry, 130(4), 1036–1043.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>

Ortiz Escarza, J. M., & Medina López, M. E. (2020). Estrés oxidativo ¿Un asesino silencioso? *Educación Química*, 31(1), 2. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2020.1.69709>

Pérez Jiménez, J. (2014). Metodología para la evaluación de ingredientes funcionales antioxidantes: Efecto de Fibra Antioxidante de Uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular&; en humanos (Tesis). Universidad Autónoma de Madrid, Madrid.

Perrone, A., Yousefi, S., Salami, A., Papini, A., & Martinelli, F. (2022). Botanical, genetic, phytochemical and pharmaceutical aspects of *Annona Cherimola* Mill. *Scientia Horticulturae*, 296(1), 110896. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.110896>

Quimica.es. (n.d.). *Metabolitos secundarios de las plantas*. Retrieved March 9, 2023, from https://www.quimica.es/enciclopedia/Metabolitos_secundarios_de_las_plantas.html

Quintanar Escorza, M. A., & Calderón Salinas, J. V. (2009). La capacidad antioxidante total. bases y aplicaciones. *REB*, 28(3), 95. From <https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2009/reb093d.pdf>

Rabhi, S., & Saadoun, R. (2021). *Exploration de potentiel antioxydant de l'extrait d'annonna* (tesis). Université Médéa, Médéa.

Sánchez-Gonzales, G., Castro-Rumiche, C., Alvarez-Guzman, G., Flores-Garcia, J., & Barriga-Sanchez, M. (2019). Compuestos fenólicos Y Actividad Antioxidante de los extractos de la hoja de chirimoya (*Annona Cherimola* Mill). *Revista Colombiana De Química*, 48(2), 21–26. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v48n2.76029>

- Silva-Correa, C. R., Villarreal-La Torre, V. E., Cruzado-Razco, J. L., Sagástegui-Guarniz, W. A., González-Blas, M. V., González-Siccha, A. D., Calderón-Peña, A. A., Aspajo- Villalaz, C. L., Guerrero-Espino, L. M., Rosario-Chávarri, J. D., & Hilario-Vargas, J. (2021). Antioxidant and hepatoprotective activity of ethanol extract of *Annona Cherimola* Mill. on paracetamol-induced liver toxicity in rats. *Pharmacognosy Journal*, 13(4), 874–882. <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.112>
- Varadharaj, V., & P., A. (2017). Phytochemical and pharmacological potential of *Annona* species: A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(7), 68. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i7.18073>
- Yang, X., Wang, Q., Pang, ZR, Pan, MR y Zhang, W. (2017). El extracto enriquecido con flavonoides de la semilla de *Hippophae rhamnoides* reduce la obesidad inducida por una dieta alta en grasas, la hipertrigliceridemia y la acumulación de triglicéridos hepáticos en ratones C57BL / 6. *Biología farmacéutica*, 55(1), 1207-1214. Recuperado de <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/13880209.2016.1278454>

11 Agradecimientos


A Dios por haberme dado las fuerzas para poder lograr este tan apreciado
anhelo.

A mis padres por sus consejos y ejemplo de perseverancia durante toda mi
vida

A mi compañeros y profesores su apoyo incondicional.

Gracias.

12 Anexos



REPOSITORIO INSTITUCIONAL DIGITAL


FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN DE DOCUMENTOS DE INVESTIGACIÓN

1. Información del Autor			
CRUZ GUTIERREZ RUTH		70300144	libra1794@hotmail.es
Apellidos y Nombres		ID	Correo Electrónico
2. Tipo de Documento de Investigación			
<input checked="" type="checkbox"/>	Tesis	<input type="checkbox"/> Trabajo de Inflexión Profesional	<input type="checkbox"/> Trabajo Académico
3. Grado Académico o Título Profesional ¹			
<input checked="" type="checkbox"/>	Bachiller	<input type="checkbox"/> Título Profesional	<input type="checkbox"/> Título Segunda Especialidad
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Maestría		<input type="checkbox"/> Doctorado
4. Título del Documento de Investigación			
"Determinación de moléculas bioactivas y su capacidad antioxidante en extractos de hojas de <i>Annona cherimolla</i> L. "chirimoya" procedente del distrito de Simbal-La Libertad"			
5. Programa Académico			
FARMACIA Y BIOQUIMICA			
6. Tipo de Acceso al Documento			
<input checked="" type="checkbox"/>	Abierto a Todos ² (Todos los documentos son abiertos)		<input type="checkbox"/> Acceso restringido ³ (Todos los documentos son restringidos)
(*) En caso de restringido indicar nivel de acceso			


A. Originalidad del Archivo Digital
 Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado Evaluador y forma parte del proceso que conduce a obtener el grado académico o título profesional.

B. Otorgamiento de una licencia CREATIVE COMMONS⁴
 El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Institucional Digital, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.⁵

Fecha	Día	Mes	Año
Chimbote	16	11	2023



Huella Digital



Firma

Reporte

1. Según Resolución de Consejo Directivo N° 024-2023-CD/USP/012, Reglamento Institucional de Trabajo de Investigación para optar títulos académicos y Títulos Profesionales, del 6 de marzo de 2023.

2. Ley N° 28038, Ley que regula el Repositorio Institucional de Datos, Tecnología e Información de la Universidad San Pedro, promulgada el 20 de mayo de 2015.

3. El archivo digital en este documento se publica, otorga a la Universidad San Pedro, una licencia de acceso, por lo que se podrá acceder de forma libre y gratuita en el Repositorio Institucional Digital. Asimismo, otorga los derechos de Acceso y Propiedad Intelectual al archivo en el momento de la ley.

4. El autor de que el autor, otorga la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License (CC BY-NC-SA) que permite a los usuarios de la obra, de acceder a la obra de manera libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento en el Repositorio Institucional Digital.

5. La Universidad San Pedro, otorga a los usuarios de la obra de investigación un acceso a la obra de investigación en formato digital y en formato físico, por lo que se podrá acceder de forma libre y gratuita en el Repositorio Institucional Digital.

6. Según el artículo 112 del artículo 112 del Reglamento del Registro Nacional de Trabajo de Investigación para optar títulos académicos y títulos profesionales, otorga a los usuarios de la obra de investigación un acceso a la obra de investigación en formato digital y en formato físico, por lo que se podrá acceder de forma libre y gratuita en el Repositorio Institucional Digital.

Nota: En caso de restringido indicar nivel de acceso a los datos (1) No, (2) Sí, (3) Sí, (4) Sí, (5) Sí

UNIVERSIDAD SAN PEDRO | Repositorio Institucional Digital

Determinación de moléculas bioactivas y su capacidad antioxidante en extractos de hojas de *Annona cherimolla* L. "chirimoya" procedente del distrito de Simbal-La Libertad.

INFORME DE ORIGINALIDAD

23%	21%	6%	9%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	2%
2	www.researchgate.net Fuente de Internet	2%
3	repositorio.ug.edu.ec Fuente de Internet	2%
4	repositorio.uladech.edu.pe Fuente de Internet	2%
5	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
6	revistas.unam.mx Fuente de Internet	1%
7	eprints.ucm.es Fuente de Internet	1%
8	docs.bvsalud.org Fuente de Internet	1%

9	1library.co Fuente de Internet	1 %
10	renati.sunedu.gob.pe Fuente de Internet	1 %
11	eciperu.net Fuente de Internet	1 %
12	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	1 %
13	Submitted to Universidad Anahuac México Sur Trabajo del estudiante	<1 %
14	search.scielo.org Fuente de Internet	<1 %
15	repository.unad.edu.co Fuente de Internet	<1 %
16	www.revfinlay.sld.cu Fuente de Internet	<1 %
17	aprenderly.com Fuente de Internet	<1 %
18	dspace.ups.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
19	core.ac.uk Fuente de Internet	<1 %
20	repository.udca.edu.co	

	Fuente de Internet	<1 %
21	pesquisa.bvsalud.org Fuente de Internet	<1 %
22	repositorio.usanpedro.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
23	repositorio.unapiquitos.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
24	livrosdeamor.com.br Fuente de Internet	<1 %
25	Submitted to Universidad Argentina John F. Kennedy Trabajo del estudiante	<1 %
26	repositorio.uap.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
27	repositorio.upagu.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
28	riunet.upv.es Fuente de Internet	<1 %
29	bolsa-trabajo.upads.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
30	fondoeditorial.unat.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
31	patents.google.com Fuente de Internet	<1 %

		<1 %
32	repositorio.cientifica.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
33	Submitted to Universidad Nacional de Colombia Trabajo del estudiante	<1 %
34	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
35	es.scribd.com Fuente de Internet	<1 %
36	www.theibfr.com Fuente de Internet	<1 %
37	agris.fao.org Fuente de Internet	<1 %
38	pharmacologyonline.silae.it Fuente de Internet	<1 %
39	Lina Marcela Aguilera Agudelo, Nicole Dayanna Hernández León, Miguel Angel Ramírez Niño, Miguel Ángel Navarro Ramírez. "Actividad antioxidante y contenido de polifenoles en pulpa del caimo (Pouteria caimito)", Revista Sistemas de Producción Agroecológicos, 2021 Publicación	<1 %

Anexo 1

Ficha de recolección de datos

Clasificación de la hoja de Annona cherimolla L. "chirimoya"

Parámetro	Experto 1	Experto 2	Experto 3
Forma de la lámina	Ovado-lanceoladas	Ovado-lanceoladas	Ovado-lanceoladas
Base	Acorazonada	Acorazonada	Acorazonada
Ápice	Redondeado	Redondeado	Redondeado
Borde	Entero	Entero	Entero
Textura del Limbo	Pubescente	Pubescente	Pubescente
División del limbo	Hoja simple	Hoja simple	Hoja simple
Nervaduras	Pinnada	Pinnada	Pinnada
presencia de peciolo	Peciolada	Peciolada	Peciolada
Posición	Alternas	Alternas	Alternas

Anexo 2

Base de datos

Características organolépticas y físicas de la hoja de Annona cherimolla L. “chirimoya”

Parámetro	Experto 1	Experto 2	Experto 3
Color del Haz	Verde oscuro	Verde oscuro	Verde oscuro
Color del envés	Verde claro	Verde claro	Verde claro
Olor	Sui generis	Sui generis	Sui generis
Sabor	Amargo	Amargo	Amargo
Textura del Limbo	Rugosa	Rugosa	Rugosa
	Aterciopelada	Aterciopelada	Aterciopelada
	Dura	Dura	Dura

Humedad y cenizas totales de las hojas de Annona cherimolla L. “chirimoya”

Parámetro	1	2	3	4	PROMEDIO
Humedad	64%	63%	67%	66%	65%
Cenizas totales	13.20%	13.13%	13.18%	13.12%	13.16%

Caracteres organolépticos de los extractos acuoso, etanólico y clorofórmico de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”

Característica	Mediciones								
	Extracto acuoso			Extracto etanólico			Extracto clorofórmico		
	Experto 1	Experto 2	Experto 3	Experto 1	Experto 2	Experto 3	Experto 1	Experto 2	Experto 3
Color	Castaño	Castaño	Castaño	Marrón	Marrón	Marrón	Tabaco	Tabaco	Tabaco
Olor	Inodoro	Inodoro	Inodoro	Etanólico	Etanólico	Etanólico	Clorofórmico	Clorofórmico	Clorofórmico
Sabor	Amargo	Amargo	Amargo	Astringente	Astringente	Astringente	Suigéneris	Suigéneris	Suigéneris
Aspecto	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
Textura	Fluido	Fluido	Fluido	Fluido	Fluido	Fluido	Fluido	Fluido	Fluido

Evaluación de los caracteres físicos de los extractos acuoso, etanólico y clorofórmico de las hojas de Annona cherimolla L. “chirimoya”

Característica	Mediciones								
	Extracto acuoso			Extracto etanólico			Extracto clorofórmico		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
pH	6.4	6.6	6.5	5.7	5.8	5.9	--	--	--
Densidad	0.987	0.991	0.986	0.965	0.961	0.959	1.242	1.261	1.264
Índice de refracción	1.265	1.266	1.264	1.257	1.259	1.257	1.357	1.354	1.358
Sólidos extraíbles	2.19	2.22	2.19	2.86	2.88	2.90	0.88	0.89	0.87

Metabolitos secundarios presentes en las hojas de Annona cherimolla L. "chirimoya" procedente de Simbal-La Libertad.

Ensayo	Compuesto	Extracto acuoso	Extracto etanólico	Extracto clorofórmico
Sudan	Aceites y Grasas	-	+	+
Baljet	Lactonas y Cumarinas	-	-	+
Liebermann-Buchard	Triterpenos-Esteroides	-	-	++
Wagner	Alcaloides	+	+	-
Hager		+	+	-
Dragendorf		+	+	-
Fehling	Azucares reductores	+	+	-
Espuma	Saponinas	-	-	-
Tricloruro Férrico	Taninos y Fenoles	++	++	-
Borntrager	Quinonas	+	+	-
Shinoda	Flavonoides	++	++	-
Antocianidina	Antocianidina	-	-	-

Lecturas de la absorbancia a distintas concentraciones del Ácido Ascórbico, para determinar actividad antioxidante por medio del DPPH

Concentración Ácido Ascórbico	Absorbancia						\bar{X}
	1	2	3	4	5	6	
0	0.7377	0.7502	0.7389	0.7532	0.7571	0.7472	0.7474
0.6	0.6467	0.6581	0.6682	0.6693	0.6777	0.6532	0.6622
1.25	0.542	0.5367	0.5322	0.5408	0.5308	0.5359	0.5364
3.75	0.3241	0.3313	0.31703	0.3178	0.33377	0.3284	0.3254
5	0.12883	0.1263	0.126578	0.12689	0.128322	0.126886	0.1273
6.25	0.05176	0.05191	0.05359	0.05251	0.05061	0.05222	0.0521

Lecturas de la absorbancia a distintas concentraciones del extracto acuoso de las hojas de Annona cherimolla L. "chirimoya" procedente de Simbal-La Libertad, para determinar actividad antioxidante por medio del DPPH

Concentración de extracto acuoso	Absorbancia						\bar{X}
	1	2	3	4	5	6	
0	0.7377	0.7502	0.7389	0.7532	0.7571	0.7472	0.7474
0.6	0.6837	0.6996	0.6686	0.6865	0.7062	0.6798	0.6874
1.25	0.5836	0.604	0.5878	0.5877	0.5734	0.5939	0.5884
3.75	0.4042	0.3687	0.3935	0.3863	0.3852	0.4159	0.3923
5	0.1756	0.1638	0.1553	0.1512	0.1643	0.1702	0.1634
6.25	0.0859	0.0926	0.1033	0.0928	0.0743	0.0839	0.0888

Lecturas de la absorbancia a distintas concentraciones del extracto etanólico de las hojas de Annona cherimolla L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad, para determinar actividad antioxidante por medio del DPPH

Concentración de extracto etanólico	Absorbancia						\bar{X}
	1	2	3	4	5	6	
0	0.7377	0.7502	0.7389	0.7532	0.7571	0.7472	0.7474
0.6	0.6723	0.6619	0.6428	0.6618	0.6424	0.632	0.6522
1.25	0.5132	0.5077	0.5414	0.5314	0.5188	0.5447	0.5262
3.75	0.3045	0.2937	0.2854	0.2671	0.2875	0.2766	0.2858
5	0.1895	0.2156	0.2043	0.182	0.2058	0.1956	0.1988
6.25	0.0651	0.0469	0.0859	0.0645	0.0715	0.0645	0.0664

Anexo 3.

Evaluación fitoquímica preliminar de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”

La determinación de metabolitos secundarios presentes en cualquiera de los extractos se realizó bajo la metodología de Miranda & Cuellar, 2000. Se realizaron principalmente, las siguientes pruebas:

- **Borntrager:** En un tubo de ensayo de 7 x 10 se colocó 2 mL de extracto y se le añadió 1 mL de hidróxido de sodio al 5%. Se agitó mezclando las fases y se dejó en reposo hasta su posterior separación.
- **Dragendorff:** En un tubo de ensayo de 7 x 10 se colocó 2 mL de extracto y se le añadió unas gotas de HCl al 1% hasta pH ácido, para finalmente agregar III gotas del reactivo Drangendorff.
- **Mayer:** En un tubo de ensayo de 7 x 10 se colocó 2 mL de extracto y se le añadió unas gotas de HCl al 1% hasta pH ácido, para finalmente agregar III gotas del reactivo de Mayer.
- **Ensayo de resinas:** En un tubo de ensayo de 7 x 10 se colocó 2 mL de extracto y se llevaron hasta extracto blando. Se agregó 1 mL de etanol de 96° y 2 mL de agua destilada.
- **Ninhidrina:** En un tubo de ensayo de 7 x 10 se colocó 2 mL de extracto y se llevaron hasta extracto blando. Se agregó 1 mL de etanol de 96°. Se agregaron II gotas de ninhidrina al 2%. La mezcla se calentó 5 min en baño maría.
- **Fehling:** En un tubo de ensayo de 7 x 10 se colocó 2 mL. de extracto y se llevaron hasta extracto blando. Se agregó 2 mL. del reactivo de Fehling y se calentó durante 5 min en baño maría.

- **Ensayo de Antocianidinas:** Se calentaron 2 mL. del extracto durante 10 min con 1 mL. de HCl cc. Se dejó enfriar y se añadieron 1 mL. de agua y 2 mL. de alcohol amílico. Se agitó y se dejó en reposo para la separación de las dos fases.
- **Ensayo de Baljet:** 5 mL de extracto se llevaron hasta extracto blando y se redisolvieron en 1 mL. de etanol de 96°. En estas condiciones se adicionará el reactivo de Baljet.
- **Liebermann-Burchart:** A 5 mL. de extracto se le agregaron 0,5 mL de anhídrido acético, 1 mL de ácido acético y luego II gotas de ácido sulfúrico concentrado.
- **Tricloruro Férrico:** En un tubo de ensayo de 7 x 10 se colocó 2 mL de extracto y se llevaron hasta extracto blando. Se agregó 1 mL de etanol de 96°. Se agregó 1 gota de tricloruro de hierro al 5%.

Anexo 4

Determinación de la capacidad antioxidante de las hojas de *Annona cherimolla* L. “chirimoya”.

Preparación de la solución patrón de DPPH

En una fiola de 100 mL. se disolvieron 2.0 mg de DPPH Sigma Aldrich en Metanol. (Rodríguez Aguirre et al., 2016)

Preparación de la solución stock de ácido ascórbico

En una fiola de 100 mL. se colocó 100 mg de ácido ascórbico y se aforó con metanol, preparando de esta manera una solución stock de 1 mg/mL. (Rodríguez Aguirre et al., 2016).

Curva referencial para ácido ascórbico

Para obtener la curva referencial de ácido ascórbico a partir de la solución stock preparada y con una ligera modificación a lo actuado por Rodríguez Aguirre et al., (2016), por dilución, se prepararon soluciones a las concentraciones de 0.6, 1.25, 2.5, 3.75, 5.00 y 6.25 mg/L de metanol.

Se trabajó con 5 tubos de ensayo en los cuales se colocará 1.5 mL. de la solución patrón de DPPH y se agregará 0.5 mL de cada una de las soluciones de ácido ascórbico de diferente concentración preparadas. Se dejó en reposo y en oscuridad por 30 minutos. Pasados los 30 minutos se midieron las absorbancias a 517 nanómetros de cada uno de los tubos y con esos datos se calcularon los respectivos porcentajes utilizando la siguiente fórmula: Olivera Delgado & Gutiérrez Felix, (2021)

$$\% \text{ de captación DPPH} = \frac{A_{\text{inicial}} - A_{\text{final}}}{A_{\text{inicial}}} \times 100$$

Método DPPH:

Para determinar la actividad antioxidante de un extracto de cualquier naturaleza se realizarán lo siguiente:

- Cada uno de los extractos se ajustó a una concentración de 60 mg/L.
- A partir de esta solución se prepararon soluciones de 1.25, 2.5, 3.75, 5.00, 6.25, 12.5 y 25 mg/L.
- En 7 tubos de ensayo perfectamente identificados se colocó 1.5 mL del reactivo DPPH.
- A cada uno de los tubos de ensayo con 1.5 mL de DPPH se le agregó 0.5 mL de cada una de las soluciones preparadas.
- Las absorbancias se leyeron en el espectrofotómetro UV/VIS a 517 nm.
- Los cálculos correspondientes se realizaron mediante el uso de la siguiente fórmula.

$$\% \text{ de captura DPPH} = \left(\frac{\text{Abs. Control} - \text{Abs. Muestra}}{\text{Abs. Control}} \right) \times 100$$

Anexo 5

Matriz de consistencia

PROBLEMA	HIPÓTESIS	OBJETIVOS	METODOLOGÍA
<p>¿Cuál es la capacidad antioxidante y que metabolitos secundarios se encuentran en las hojas de Annona cherimolla L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad?</p>	<p>Basados en la bibliografía pertinente, los extractos de las hojas de Annona cherimolla L. “chirimoya”, dentro de su composición química, tienen sustancias polifenólicas y por lo tanto sus extractos deben mostrar una buena actividad antioxidante.</p>	<p>GENERAL: ¿Determinar la capacidad antioxidante de las hojas de Annona cherimolla L. “chirimoya” procedente de Simbal- ¿La Libertad, mediante el método DPPH? ESPECÍFICOS:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Determinar los parámetros de calidad de las hojas de Annona cherimolla L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad. 2. Determinar los parámetros de calidad de los extractos de las hojas de Annona cherimolla L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad. 3. Identificar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de Annona cherimolla L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad. 4. Determinar la capacidad antioxidante de las hojas de Annona cherimolla L. “chirimoya” procedente de Simbal-La Libertad. 	<p>Tipo de investigación: Descriptiva Diseño de investigación: Descriptivo simple Procesamiento de la muestra: Los extractos se obtendrán por reflujo y filtración al vacío del material particulado de las hojas de Annona cherimolla L. “chirimoya”. Preparación de la solución de DPPH Preparación de las soluciones de ácido ascórbico para obtener la curva de calibración. y la curva de porcentaje de inhibición para el ácido ascórbico y su IC50. Preparación de las soluciones de Annona cherimolla para obtener la curva de porcentaje de inhibición y a partir de allí obtener la IC50 para esta muestra Realizar la técnica DPPH y graficar las curvas respectivas Se realizó las comparaciones entre los valores de IC50 de cada muestra, para poder así evaluar la capacidad antioxidante frente al radical libre DPPH.</p>