Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Análisis de la capacidad antioxidante y efecto citotóxico del extracto de *Chenopodium pallidicaule* (cañihua) en líneas celulares de cáncer de mama

Tesis presentada por:

Dávila Ortiz, Rosa Elvira

ORCID: 0009-0002-9594-6247

Mendoza Miranda, Rocio Sandra

ORCID: 0009-0006-6096-388X

para optar el Título Profesional de Química Farmacéutica

Asesora:

Dra. Choquenaira Quispe, Celia

ORCID: 0000-0002-2272-5585

Arequipa - Perú

2026

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FARMACIA Y BIOQUIMICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 25 de Junio del 2026

Dictamen: 016609-C-EPFyB-2026

Visto el borrador del expediente 016609, presentado por:

2020898072 - **DÁVILA ORTIZ ROSA ELVIRA**
2020898612 - **MENDOZA MIRANDA ROCIO SANDRA**

Titulado:

ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y EFECTO CITOTÓXICO DEL EXTRACTO DE CHENOPODIUM PALLIDICAULE (CAÑIHUA) EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Titulo Profesional/Titulo de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

29440909 - **MOLINA RODRIGUEZ FREDY NICOLAS**
DICTAMINADOR

43668681 - **PAREDES FUENTES JULITZA LINDSEY**
DICTAMINADOR

41225109 - **VERA LOPEZ KARIN JANNET**
DICTAMINADOR

ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y EFECTO CITOTÓXICO DEL EXTRACTO DE CHENOPODIUM PALLIDICAULE (CAÑIHUA) EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA

INFORME DE ORIGINALIDAD

20%	16%	9%	6%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	3%
2	repositorio.unjfsc.edu.pe Fuente de Internet	1%
3	repositorio.uss.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	<1%
5	core.ac.uk Fuente de Internet	<1%
6	academica-e.unavarra.es Fuente de Internet	<1%
7	Submitted to ipn Trabajo del estudiante	<1%
8	Submitted to Universidad Politecnica Salesiana del Ecuado Trabajo del estudiante	<1%
9	Submitted to Universidad Católica Boliviana "San Pablo" Trabajo del estudiante	<1%
10	www.slideshare.net Fuente de Internet	<1%
11	baixardoc.com Fuente de Internet	<1%
12	Catalina Leos-Rivas, Catalina Rivas-Morales, David Gilberto García-Hernández. "Actividad antioxidante y toxicidad", Omnia Publisher SL, 2016 Publicación	<1%
13	Submitted to Universidad Pontificia Bolivariana Trabajo del estudiante	<1%
14	Submitted to Universidad de Guayaquil Trabajo del estudiante	<1%

Dedicatoria

La presente tesis está dedicada a Dios y a la Virgen de Chapi, quienes guiaron mis pasos y me brindaron vida y salud necesaria para cumplir este proyecto profesional.

A mi amado esposo, Cluber por ser mi apoyo incondicional durante todo mi desarrollo académico.

A mis hijas, Angeles y Abigail, por ser siempre mi motor y motivo constante para seguir forjando un nuevo camino hacia nuevos horizontes.

A mi querida familia, por recordarme siempre que somos un equipo; con este hermoso sentimiento de unidad presente, los amare eternamente.

A mis queridos padres gracias por sus sabios consejos, que han servido de guía en mi trayectoria.

A mi hermano Ronald, por ser parte de mi equipo de apoyo.

Gracias a cada por su apoyo incondicional, este sueño se hizo realidad.

Rocio, Mendoza Miranda

A Dios por brindarme la guía divina en cada decisión, la fortaleza en los momentos difíciles y la salud necesaria para realizar este proyecto con éxito, logrando alcanzar uno de los sueños más grandes e importantes de mi vida profesional.

A mis amados padres, Gaspar y Martha, por el amor infinito, esfuerzo incansable y los sabios consejos que con tanto esmero han dedicado hacia mí a lo largo de toda mi vida. Gracias por su apoyo incondicional en cada paso que di y en cada noche de desvelo; gracias a sus sacrificios hoy me convierto en la profesional y en la persona que soy; este gran logro es suyo, porque nada de esto habría sido posible sin ustedes a mi lado.

A mi adorada hermanita Fabiola, por su gran cariño y su amor incondicional y por la inmensa confianza que siempre depositó en mí. Fuiste y serás siempre el pilar fundamental en mi carrera, la persona que me brindó las palabras exactas de aliento cuando más lo necesitaba y quien alimento mis sueños con fe.

A mis adorados y traviesos sobrinos, Abril y Thiago, por llenar mi vida de una felicidad pura, ternura infinita y por regalarme esas sonrisas que me daban aliento durante todo este proyecto.

Rosa Elvira, Dávila Ortiz

Agradecimientos

A Dios, por ser nuestra fortaleza en los momentos de dificultad y concedernos la sabiduría necesaria para superar cada reto en el camino, permitiéndonos culminar con éxito esta importante etapa académica.

A nuestras amadas familias, por su apoyo incondicional, amor infinito y constante motivación para seguir adelante, quienes nos han acompañado con paciencia en cada paso y desvelo hasta la culminación de este gran camino.

De manera especial. agradecemos a nuestra asesora, Dra. Celia Choquenaira Quispe, por su valiosa orientación, su tiempo dedicado y por compartir sus importantes conocimientos y experiencias que fueron fundamentales para la culminación de este proyecto.

A cada persona que sumó un granito de arena en esta etapa universitaria, brindándonos una palabra de aliento, un gesto de ayuda o su valiosa presencia. Ningún esfuerzo pasa desapercibido; gracias a su cariño, hoy hacemos realidad este gran sueño compartido.

Finalmente, a la Universidad Católica de Santa María por abrirnos sus puertas y brindarnos las enseñanzas y conocimientos esenciales que hoy se ven reflejados con orgullo en nuestro desarrollo profesional y futuro laboral.

Epígrafe

"La investigación es ver lo que todo el mundo ha visto y pensar lo que nadie más ha pensado."

Albert Szent-Györgyi

RESUMEN

Chenopodium pallidicaule conocido como cañihua es un pseudocereal andino que lo cultivan en la región sur del Perú y Bolivia, donde el clima es gélido y el suelo árido, posee un alto contenido de proteínas convirtiéndola así en un alimento nutricional. El objetivo fue determinar la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico y el efecto citotóxico del fraccionamiento del extracto de *Chenopodium pallidicaule* (Cañihua) en las líneas celulares de cáncer de mama. Para ello, se utilizaron semillas de la variedad Ramis obtenidas en la Estación Experimental Agraria Illpa de INIA ubicado en la región sur del Perú, las cuales fueron transportadas hasta el laboratorio de la Universidad Católica de Santa María bajo condiciones adecuadas; la metodología consistió en la extracción por percolación que se realizó durante 24 horas a partir de 50 g de la muestra pulverizada. Mediante una evaluación de metabolitos secundarios se cuantificaron taninos con ácido tánico, flavonoides con quercetina, compuestos fenólicos con ácido gálico y saponinas con ácido oleanólico. Posteriormente se evaluó la capacidad antioxidante utilizando el método DPPH; se realizó el cultivo celular en las líneas celulares de cáncer de mama MCF-7 y MDA-MB-231 y se utilizó el ensayo de MTT para determinar la capacidad citotóxica del fraccionamiento de saponinas del extracto. Los resultados destacaron valores de 454.037 µg EAT/mL de contenido total de taninos, flavonoides 316.000 µg QE/mL, compuestos fenólicos 1093.778 µg GAE/mL, saponinas 655.278 µg EAO/mL, un valor de 1971.24 µmol TE/L de capacidad antioxidante y un 59.93 % de inhibición de radicales libres. La actividad citotóxica empleó una fracción rica en saponinas obtenida por fraccionamiento con n-butanol, el fraccionamiento no presentó actividad citotóxica en las líneas celulares MCF-7 y MDA-MB-231, manteniendo una viabilidad celular superior al 70 % en todas las concentraciones evaluadas y sin evidencia de relación dosis - respuesta.

En conclusión, se determinó que el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis contiene metabolitos secundarios bioactivos, posee una capacidad antioxidante capaz de neutralizar radicales libres, pero no ejerce efecto citotóxico sobre las líneas celulares MCF-7 y MDA MB 231.

Palabras clave: Cañihua, Capacidad antioxidante, actividad citotoxicidad

ABSTRACT

Chenopodium pallidicaule, known as cañihua, is an Andean pseudocereal cultivated in southern Peru and Bolivia, where the climate is frigid and the soil is arid; it has a high protein content, making it a nutritious food. The objective was to determine the antioxidant capacity of the hydroalcoholic extract and the cytotoxic effect of fractions of the *Chenopodium pallidicaule* (cañihua) extract on breast cancer cell lines. To this end, seeds of the Ramis variety obtained from INIA's Illpa Agricultural Experimental Station, located in southern Peru, were used; these were transported to the laboratory at the Catholic University of Santa María under appropriate conditions. The methodology consisted of percolation extraction, which was carried out for 24 hours using 50 g of the pulverized sample. Through an analysis of secondary metabolites, tannins were quantified as tannic acid, flavonoids as quercetin, phenolic compounds as gallic acid, and saponins as oleanolic acid. Antioxidant capacity was subsequently evaluated using the DPPH method; cell culture was performed on the MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines, and the MTT assay was used to determine the cytotoxic capacity of the saponin fraction of the extract. The results showed values of 454,037 µg EAT/mL for total tannin content, 316,000 µg QE/mL for flavonoids, 1,093,778 µg GAE/mL for phenolic compounds, 655,278 µg EAO/mL for saponins, an antioxidant capacity of 1,971.24 µmol TE/L, and 59.93% free radical inhibition. For the cytotoxic activity assay, a saponin-rich fraction obtained by n-butanol fractionation was used; this fraction exhibited no cytotoxic activity in the MCF-7 and MDA-MB-231 cell lines, maintaining cell viability above 70% at all concentrations tested and showing no evidence of a dose-response relationship.
In conclusion, it was determined that the hydroalcoholic extract of Chenopodium pallidicaule (Ramis variety) contains bioactive secondary metabolites and possesses antioxidant activity capable of neutralizing free radicals, but does not exert a cytotoxic effect on the MCF-7 and MDA MB 231 cell lines.

Keywords: Cañihua, antioxidant capacity, cytotoxic activity

ÍNDICE

DEDICATORIA
AGRADECIMIENTOS
EPÍGRAFE
RESUMEN
ABSTRACT
INTRODUCCIÓN 1
HIPÓTESIS 3
OBJETIVOS 4
OBJETIVO GENERAL 4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS 4
TABLA DE VARIABLES E INDICADORES 5
CAPÍTULO I 6
1. Marco Teórico 7
1.1. *Chenopodium pallidicaule* 7
1.1.1. Características botánicas 7
1.1.2. Clasificación botánica 8
1.1.3. Composición fitoquímica 9
1.1.4. Propiedades de *Chenopodium pallidicaule* 9
1.1.5. Usos actuales 9
1.2. Capacidad antioxidante 10
1.2.1. Estrés oxidativo en células humanas 10
1.2.2. Mecanismo de acción de los antioxidantes 11
1.2.3. Método espectrofotométrico DPPH 11
1.3. Cáncer de mama 12
1.3.1. Epidemiología del cáncer de mama 12
1.3.2. Características del cáncer de mama 13
1.3.3. Clasificaciones del cáncer de mama 14
1.3.4. Fisiopatología del cáncer de mama 15
1.3.5. Mecanismos de resistencia terapéutica en el cáncer de mama 15
1.4. Cultivo celular 16
1.4.1. Fundamento del cultivo celular 17
1.4.2. Líneas celulares 17

1.4.3. Líneas MCF-7 17
1.4.4. Líneas MDA-MB-231 18
1.5. Actividad citotóxica 19
1.5.1. Definición del efecto citotóxico 19
1.5.2. Evaluación *in vitro* de la citotoxicidad 19
1.5.2.1. Ensayo MTT 20
CAPÍTULO II 21
2. LUGAR DE INVESTIGACIÓN 22
3. MATERIALES Y REACTIVOS 22
3.1. Materiales biológicos 22
3.2. Material, reactivos y equipos 22
4. MÉTODOS 24
4.1. Obtención de las semillas de *Chenopodium pallidicaule* Variedad Ramis 24
4.1.1. Extracción del extracto hidroalcohólico 24
4.2. Evaluación de metabolitos secundarios 25
4.2.1. Determinación de contenidos de taninos totales 25
4.2.2. Determinación de contenidos de flavonoides totales 26
4.2.3. Determinación de contenidos de compuestos fenólicos 27
4.2.4. Determinación de contenidos de saponinas totales 28
4.3. Determinación de la actividad antioxidante 28
4.3.1. Método DPPH 28
4.4. Cultivo celular 29
4.4.1. Prueba de viabilidad celular MTT 30
4.5. Análisis estadístico 30
4.6. Flujograma de la obtención y evaluación citotóxica de la muestra 31
CAPÍTULO III 32
5. RESULTADOS 33
5.1. Obtención del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* 33
5.2. Evaluación de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* 34
5.2.1. Determinación de contenido de taninos 34
5.2.2. Determinación de contenidos de flavonoides 36
5.2.3. Determinación de contenido de Compuestos fenólicos 38
5.2.4. Determinación de contenido de Saponinas 40

5.3. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH en el extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* 42
5.3.1. Porcentaje de inhibición del radical DPPH 44
5.4. Evaluación de la actividad citotóxica mediante el ensayo MTT 45
5.4.1. MCF-7 45
5.4.2. MDA-MB-231 47
CAPÍTULO IV 49
6. DISCUSIONES 50
7. CONCLUSIONES 51
8. RECOMENDACIONES 52
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 53

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Cuadro de operacionalización de variables 5

Tabla 2. Absorbancias para la curva de calibracion del ácido tanico para la determinación de taninos totales 35

Tabla 3. Resultados de la concentración total de taninos en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis 36

Tabla 4. Absorbancias para la curva de calibración de quercetina para la determinación de flavonoides totales 37

Tabla 5. Resultados de la concentración total de flavonoides en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis 38

Tabla 6. Absorbancias para la curva de calibracion del ácido gálico para la determinación de compuestos fenolicos totales 39

Tabla 7. Resultados de la concentración total de compuestos fenólicos en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis 40

Tabla 8. Absorbancias para la curva de calibracion del ácido oleanólico para la determinación de saponinas totales 41

Tabla 9. Resultados de la concentración total de saponinas en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis 42

Tabla 10. Absorbancias para la curva de calibracion de Trolox para la determinación de la actividad antioxidante 43

Tabla 11. Resultados de la actividad antioxidante en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis 44

Tabla 12. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* variedad Ramis 45

Tabla 13. Resultados del ensayo de viabilidad celular en la línea MCF-7 del fraccionamiento del extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* variedad Ramis. 46

Tabla 14. Resultados del ensayo de viabilidad celular en la línea MDA-MB-231 del fraccionamiento del extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* variedad Ramis. 47

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1. Planta de *Chenopodium pallidicaule* 7
Figura 2. Características botánicas de *Chenopodium pallidicaule* (cañihua) 8
Figura 3. Línea celular MCF-07 18
Figura 4. Línea celular MDA-MB-231. 18
Figura 5. Mapa de ubicación de la Estación Experimental Agraria Illpa (INIA), Puno 22
Figura 6. Recolección de Semilla de *Chenopodium pallidicaule* 24
Figura 7. Esquema del procedimiento de determinación taninos 26
Figura 8. Esquema del procedimiento de determinación de flavonoides 27
Figura 9. Esquema del procedimiento de determinación de compuestos fenólicos. 27
Figura 10. Esquema del procedimiento de determinación de saponinas. 28
Figura 11. Esquema del procedimiento de determinación de capacidad antioxidante. 29
Figura 12. Proceso de extracción hidroalcohólica de *C. pallidicaule* variedad Ramis mediante el método de percolación 33
Figura 13. Curva de calibración para la determinación de taninos 35
Figura 14. Curva de calibración para la determinación de flavonoides 37
Figura 15. Curva de calibración para la determinación de compuestos fenólicos 39
Figura 16. Curva de calibración para la determinación de saponinas 41
Figura 17. Curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante mediante el método DPPH 43
Figura 18. Curva dosis-respuesta del fraccionamiento del extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* variedad Ramis sobre la viabilidad celular de la línea MCF-7 46
Figura 19. Curva de dosis-respuesta del fraccionamiento del extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* variedad Ramis sobre la viabilidad celular de la línea MDA-MB-231 48

ÍNDICE DE ANEXO

Anexo 1. Constancia de determinación de *Chenopodium pallidicaule* (cañihua)..... 62
Anexo 2. Evidencias Fotográficas 63

LISTA DE ABREVIATURAS

1. **mL**: mililitros
2. **µg**: microgramos
3. **h**: horas
4. **g**: gramos
5. **min**: minutos
6. **µM**: micromolar
7. **nm**: nanómetro
8. **HCl**: ácido clorhídrico (1 M)
9. **H_2SO_4**: ácido sulfúrico (70 %)
10. **$FeCl_3$**: cloruro férrico deshidratado
11. **$NaNO_2$**: nitrito de sodio
12. **$AlCl_3$**: cloruro de aluminio
13. **NaOH**: hidróxido de sodio
14. **Na_2CO_3**: carbonato de sodio
15. **EDTA**: ácido etilendiaminotetraacético disódico
16. **MCF-7**: línea celular de cáncer de mama receptor hormonal positivo
17. **MDA-MB-231**: línea celular de cáncer de mama triple negativo
18. **EAT**: equivalentes de ácido tánico
19. **GAE**: equivalentes de ácido gálico
20. **QE** equivalentes de quercetina
21. **EAO**: equivalentes de ácido oleanólico
22. **R^2**: coeficiente de determinación
23. **DPPH**: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
24. **DMEM**: Dulbecco's Modified Eagle Medium
25. **MTT**: bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio
26. **DMSO**: dimetilsulfóxido
27. **IC_{50}**: concentración inhibitoria media

INTRODUCCIÓN

Chenopodium pallidicaule, comúnmente conocida como cañihua, es un grano originario de los Andes, con cultivos predominantes en zonas del Perú, Ecuador y Bolivia. Su cultivo es considerado menos exigente en cuanto a suelos y a su resistencia en altitudes superiores a los 3600 m.s.n.m y a diversas variaciones climáticas en comparación con otros granos tradicionales. Esta especie por su alto contenido nutricional tiene alta demanda en las comunidades altoandinas. Además, se destaca por contener proteínas de alto valor biológico, ácidos grasos poliinsaturados, fibras dietéticas y micronutrientes como calcio, hierro y fósforo (1,2). También posee vitaminas del complejo B como B1, B2, B3 y vitamina C. Al poseer todas estas características lo convierten en un insumo útil para la dieta de las personas que requieren altos niveles nutricionales. Asimismo, es un producto que no contiene gluten, siendo apto y seguro para personas diagnosticadas con enfermedades celíacas o que presenten sensibilidad al gluten. Por lo tanto, aumenta su valor dentro de la alimentación en la actualidad (1).

Es muy importante conocer que diversos estudios científicos han evidenciado que *Chenopodium pallidicaule* posee capacidad antioxidante, dicha propiedad es atribuida a sus compuestos fenólicos extractables como también a los no extractables, los cuales han evidenciado significativamente su actividad protectora en modelos biológicos, químicos y computacionales, que analizan marcadores de estrés oxidativo (3). Además, esta actividad antioxidante se relaciona con la capacidad de neutralizar moléculas inestables durante las actividades celulares. El oxígeno y nitrógeno son muy esenciales para el metabolismo, pero bajo ciertas condiciones puede llegar a causar daño en el ADN, lípidos y proteínas generando moléculas inestables, como los radicales libres o especies reactivas de oxígeno. Por lo tanto, estas especies cuando se ven acumuladas y sin ninguna defensa de los antioxidantes adecuados, se produce un desequilibrio por el estrés oxidativo, el cual se asocia directamente con el desarrollo de diversas enfermedades crónicas y degenerativas (4).

Habitualmente, los productos de origen vegetal son empleados en la medicina ancestral y han demostrado que cumplen un propósito primordial para la prevención de diversos tipos de cáncer. Estos conocimientos han sido la base fundamental para las investigaciones científicas que buscan identificar y aislar diferentes compuestos bioactivos con potencial terapéutico. Cuando recién se iniciaba con los tratamientos de quimioterapia se empleaban diversos extractos de origen natural como agentes citotóxicos que eran capaces de dañar el ADN, además de bloquear enzimas esenciales como la topoisomerasa que impide la división celular (5). En tiempos actuales se reporta que los compuestos vegetales donde se encuentran los flavonoides, polifenoles, triterpenoides y monoterpenos presentan efectos antitumorales por su

capacidad que poseen para inducir la apoptosis, inhibir la proliferación celular y la supresión de la metástasis. Estos datos nos ayudan a mantener el interés para explorar el potencial farmacológico de los productos naturales y asimismo idear nuevas estrategias terapéuticas con más efectividad y que sean menos invasivas (6).

Se manifiestan cada año en América Latina y el Caribe aproximadamente 900,000 nuevas incidencias de cáncer y aproximadamente 542,000 de mortalidad atribuida a esta enfermedad. El cáncer de mama es la neoplasia más frecuente en mujeres y la principal causa de muerte. En el Perú particularmente la tasa de mortalidad se debe a la edad y por neoplasias malignas que alcanzaron 108.7 por cada 100,000 habitantes en el 2019, siendo el país con la tasa más alta (7). A pesar de los esfuerzos institucionales en campañas para la detección precoz y prevención, muchos casos han sido diagnosticados en estadios avanzados, lo cual va disminuyendo drásticamente la eficacia de los tratamientos y las tasas de supervivencia.

El presente estudio de investigación tiene como objetivo analizar la capacidad antioxidante y el efecto citotóxico del extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* sobre líneas celulares de cáncer de mama. El análisis será realizado mediante una evaluación de metabolitos secundarios presentes, se evaluará la actividad antioxidante mediante el ensayo DPPH, asimismo se determinará su efecto citotóxico mediante el ensayo MTT en las líneas celulares MCF-7 y MDA-MB-231.

Finalmente, se determinará la concentración inhibitoria media (IC_{50}) y los datos serán procesados mediante software especializado para así poder comparar los resultados obtenidos con ayuda de los controles establecidos.

HIPÓTESIS

Dado que los flavonoides y compuestos fenólicos presentes en *Chenopodium pallidicaule* (cañihua) poseen una reconocida actividad antioxidante y capacidad para neutralizar radicales libres es posible que la fase butanólica fraccionada del extracto de esta planta pueda presentar actividad citotóxica y un potencial efecto anticancerígeno en líneas celulares de cáncer de mama cultivadas *in vitro*.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Analizar la capacidad antioxidante y efecto citotóxico del extracto de *Chenopodium pallidicaule* (Cañihua) en líneas celulares de cáncer de mama, Arequipa 2025.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar la evaluación de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* (Cañihua).
- Evaluar la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* (Cañihua).
- Evaluar la capacidad anticancerígena de la fase butanólica fraccionada del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* (Cañihua) sobre células de cáncer de mama MCF-7 y MDA-MB-231.

TABLA DE VARIABLES E INDICADORES

Tabla 1. Cuadro de operacionalización de variables

Variables	Variable	Indicadores	Unidades
Independiente	Composición y concentración del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule*	Porcentaje	%
		Tipos de metabolitos	µg/mL
Dependiente	Capacidad antioxidante	DPPH	µmol TE/L
	Efecto citotóxico	IC_{50}	µg/mL

* Elaboración propia

CAPÍTULO I

1. Marco Teórico

1.1. *Chenopodium pallidicaule*

La cañihua *Chenopodium pallidicaule* es un grano muy pequeño de gran importancia para las comunidades de la región andina, que se encuentran en las regiones del sur de Perú y Bolivia (8). El cultivo de cañihua es de alta resistencia a temperaturas bajas de hasta -3°C, y diversas variaciones climáticas, sin afectar la producción. Además, son muy fáciles de adaptarse al suelo y a temporadas de sequía, como ocurre en las regiones altoandinas (9). Desde una orientación nutricional, la cañihua tiene un alto contenido de proteínas en un rango del 15 % a 19 % y con alta calidad de aminoácidos esenciales como la L- lisina, triptófano e isoleucina que son necesarias para nuestro organismo. También, se ha observado que presenta una cantidad de fibras dietéticas, compuestos bioactivos y minerales como calcio, magnesio, hierro, potasio y fósforo, posicionándola, así como un alimento de alto valor nutricional para la población en general (10).



Figura 1. Planta de *Chenopodium pallidicaule*.*Elaboración propia.

1.1.1. Características botánicas

La cañihua en una planta herbácea que pertenece a la familia de las Amaranthaceae, de tamaño pequeño a mediano entre 20 a 70 cm de altura. Es una planta dicotiledónea predominante de autopolinización (autógama) con una tasa promedio al 70 %. Su ciclo de vida es anual se siembra, crece, florece, produce la semilla y se cosecha. Sus flores son diminutas, con ausencia de pétalos, y de dos tipos principales hermafroditas y pistiladas o masculinas, sin embargo, existen también un 0.5 % que son androestériles. El androceo está conformado por 1 a 3 estambres y el gineceo tiene un ovario superior, unilocular que está conformado por un pistilo terminado en dos ramas estigmáticas fusionadas en la base. El proceso de floración comienza a los 50 días después de la siembra con una duración de 11 días; la apertura de flores ocurre en un lapso de 5 días, la polinización se realiza de manera natural debido al pequeño tamaño de

las flores. Las hojas crecen alternándose con peciolos cortos, su limbo es de forma triangular con bordes dentados. Asimismo, el peciolo está casi descubierto y sirve para proteger la inflorescencia. El fruto es un aquenio envuelto por un perigonio, con una capa externa muy fina de semillas con una coloración de gris a negro. Las semillas mayormente miden entre 1 y 2 mm de diámetro, se encuentran ligeramente comprimidas y poseen un embrión de forma curvada y periforme; su germinación se optimiza mucho de los niveles de humedad que son esenciales para su cultivo y producción. El tallo es cilíndrico con estrías longitudinales que se encuentra cubierta por vacuolas, presentando un tamaño entre 25 y 70 cm, dependiendo de las condiciones y su crecimiento erguido, según la variedad su color varía entre amarillo, verde, rojo, rosado o purpura (11).

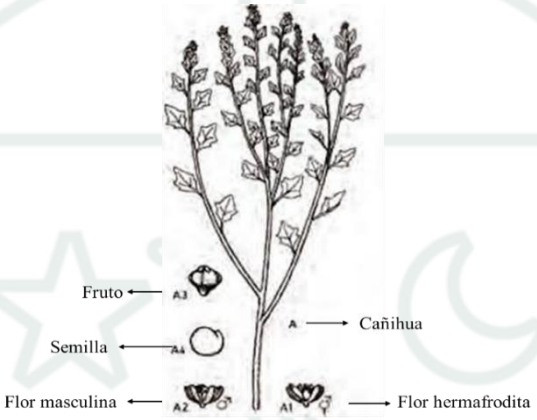


Figura 2. Características botánicas de *Chenopodium pallidicaule* (cañihua). *Adaptado de Bartolo E. y Dolly E., 2013 (12).

1.1.2. Clasificación botánica

La clasificación de *Chenopodium pallidicaule* (Cañihua) fue descrita taxonómicamente por la editorial de la Universidad Nacional del Altiplano, a continuación, se detalla de la siguiente manera: (13)

Reino: Vegetal, Eukarionta

Subreino: Fanerógamas

División: Espermatofitas

Subdivisión: Angiospermae

Clase: Dicotiledónea

Orden: Centrospermas

Familia: Amaranthaceae

Género: Chenopodium

Especie: *Chenopodium pallidicaule*

Nombre vulgar: Cañihua o kañihua

1.1.3. Composición fitoquímica

La cañihua contiene metabolitos secundarios de interés biológico, siendo excepcionalmente rica en flavonoides, compuestos fenólicos, taninos y saponinas. En investigaciones científicas fitoquímicas se identificaron flavonoides glicósidos como rutinósido, robinobiósido y 2-GAL-α-L-ramnosil-robinobiósido. Siendo estas estructuras químicas especialmente ricas en grupos hidroxilo y son los responsables de su alto poder de capacidad antioxidante (14). Asimismo, se han demostrado en análisis fitoquímicos realizados que estos granos andinos tienen un alto contenido de compuestos fenólicos y flavonoides, en este último se identificó principalmente a la quercetina en comparación con otras familias como la quinua y la kiwicha; debido a la carga fenólica la cañihua demuestra ser muy efectivo contra el daño oxidativo (15). En otros estudios recientes reportan que se han hallado alto contenido de compuestos fenólicos en semillas de cañihua, que nos sirven como nutraceútico, cumpliendo un papel importante papel para la neutralización de radicales libre y la reducción del estrés oxidativo, también se evalúo que las saponinas de la cañihua no contienen ese sabor amargo en comparación con la quinua (11).

1.1.4. Propiedades de *Chenopodium pallidicaule*

Diversos estudios demostraron que, dentro de la composición de la cañihua, posee propiedades nutricionales de alto valor en comparación con otros granos como la quinua, kiwicha, avena, muy importante para el beneficio de la salud, como la presencia de fibras dietéticas, proteínas, ácidos grasos insaturados. Además, contienen compuestos fenólicos que se relacionan con su elevada capacidad antioxidante y efectos biológicos (16). Asimismo, la cañihua contiene compuestos bioactivos que facilitan la neutralización de los radicales libres, retardando el envejecimiento y capaz de reducir el estrés oxidativo; Gracias a su contenido en fibras dietéticas mejora la digestión, disminuye el nivel de colesterol (LDL), lo cual sirve para mejorar la salud y prevenir enfermedades degenerativas (12).

1.1.5. Usos actuales

La cañihua tiene diferentes usos en la alimentación debido a su alto valor proteico y antioxidante. No obstante investigaciones recientes han reportado su uso ancestral en preparaciones tradicionales como la harina de cañihua (cañihuaco) previamente tostado y molido, se consume directamente disolviéndose en líquidos de su preferencia ya que es un alimento muy fortificante por su alto valor proteico y calórico. También se usa como harina cruda para la elaboración de panificación, frituras, batidos, mazamorras y productos procesados en la alimentación, destacando las variedades de cañihua como Ramis, Cupi y Illpa (17). Asimismo, se utilizan en la medicina ancestral, las cenizas del tallo como llipta para masticar

con las hojas de coca, dado que son muy ricas en calcio y en dieta para personas que viven especialmente en la región de la sierra (12). Estudios científicos han demostrado que es un excelente recurso por su composición rica compuestos fenólicos, proteínas, ácidos grasos insaturados y compuestos fitoquímicos, convirtiéndola en una de las alternativas nutricionales adicional a los cereales tradicionales como un alimento que beneficia la salud, protege el estrés oxidativo y la previene las enfermedades degenerativas (16).

1.2. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante indica el potencial cuantitativo de una sustancia para neutralizar radicales libres o retardar los procesos oxidativos. Los antioxidantes son compuestos químicos que el organismo utiliza para eliminar los radicales libres, estas son sustancias químicamente reactivas que introducen oxígeno en las células y gracias a eso producen oxidación, alteran el ADN y aceleran el envejecimiento. Asimismo, cuando se encuentran en concentraciones bajas son capaces de inhibir, retrasar o controlar la oxidación, mediante dos mecanismos principales: antioxidantes primarios, son capaces de ceder un átomo de hidrogeno con un electrón para estabilizar el radical libre y así lo vuelve más estable y menos reactivo; los antioxidantes secundarios, actúan sobre los catalizadores prooxidantes activos, le cede un electrón para volver estable, para atrapar los metales y retrasando así la iniciación del proceso de oxidación. Para medir la capacidad antioxidante no se puede medir de forma directa, se tienen que emplear ensayos de oxidación controlada y así obtener el potencial de la capacidad protectora frente a un estrés oxidativo inducido (18). Es importante destacar que la capacidad antioxidante total de una sustancia no depende únicamente de la cantidad de sus componentes; los compuestos interactúan entre sí, generando efectos sinérgicos o inhibitorios y varían según su entorno celular. Por consiguiente, los ensayos *in vivo* en el organismo pueden presentar limitaciones frente al estrés oxidativo biológico (19). Para la evaluación de la actividad antioxidante utilizan métodos basados en la transferencia de electrones de hidrogeno como DPPH, ABTS, FRAP, Cuprac, FCR. Investigaciones científicas han reportado que la actividad antioxidante de las plantas no es una propiedad de una sola molécula aislada sino de la suma de todos sus componentes. Por lo tanto, se requiere métodos que consideren el mecanismo de acción como la cinética de reacción para inactivar eficazmente el daño oxidativo en los procesos fisiopatológicos (20).

1.2.1. Estrés oxidativo en células humanas

El estrés oxidativo celular humano se define como la pérdida del equilibrio entre la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno y la capacidad de las células en el sistema antioxidante que ayudan a neutralizar. En este mecanismo el glutatión destaca como una de las

defensas principales de los agentes endógenos encargados de reducir el impacto de los radicales libres. Sin embargo, cuando el desequilibrio se mantiene, aumenta el daño oxidativo favoreciendo así las alteraciones celulares de los lípidos, proteínas y del ADN. La gravedad de estas alteraciones va a causar apoptosis, necrosis y finalmente causará muerte celular irreversible, este proceso está estrechamente relacionado a diversas enfermedades que involucra las patologías cardiovasculares, metabólicas, neurodegenerativas y diferentes tipos de cáncer (21,22). Asimismo, estudios recientes confirmaron que el estrés oxidativo se encuentra activamente en múltiples enfermedades, como es el caso del cáncer que es capaz de causar daño celular en el ADN, además de causar alteraciones en los procesos del funcionamiento celular (23), se ha demostrado que cuando los niveles de oxidación son altos en un ambiente celular, facilita el avance de las enfermedades, que son capaces de causar inestabilidad en el ADN, disminuyendo la eliminación de células dañadas en la apoptosis y favoreciendo el crecimiento desmedido en las células, lo que sostiene que el estrés oxidativo es principal factor en el desarrollo de enfermedades crónicas y cancerígenas (24).

1.2.2. Mecanismo de acción de los antioxidantes

Los antioxidantes cumplen la función esencial de neutralizar los daños inducidos por los radicales libres. Su mecanismo de acción se realiza mediante la donación de electrones y átomos de hidrogeno, lo que permite estabilizar las reacciones reactivas y la reducción del daño oxidativo a nivel celular. Diferentes estudios han demostrado que consumir alimentos ricos en compuestos antioxidantes de origen vegetal nos protege del estrés oxidativo, capaces de reducir riegos de enfermedades cardiovasculares, hepáticas, renales y neurológicas (25). Según el punto de vista químico, cuando los radicales libres reciben un electrón poseen la capacidad de disminuir la reactividad. Al recibir la donación los antioxidantes estos pueden transformase en nuevos radicales, que suelen ser más estables y menos reactivos. Asimismo, evite la propagación de esta reacción oxidante que causan daños a los tejidos y células (26), La capacidad antioxidante tiene diferentes compuestos como naturales y sintéticos, donde explica los diferentes mecanismos químicos donde ocurre la transferencia de átomos de hidrógeno y electrones acoplados a protones, esto permite que los radicales libres puedan perder su alta reactividad y por lo tanto puedan transformarse en moléculas más estables para reducir el daño celular y proteger el estrés oxidativo (27).

1.2.3. Método espectrofotométrico DPPH

El método DPPH es una técnica analítica de laboratorio que sirve para medir la capacidad antioxidante de diferentes sustancias. Este método utiliza un radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), que presenta un electrón desapareado y proporciona un color violeta

intenso característica de la solución. Al interactuar con los compuestos antioxidantes este es capaz de ceder un átomo de hidrogeno al radical libre, esto provoca una reducción del DPPH perdiendo su color al ser reducido y presentando una coloración que vira hacia a un tono amarillo pálido. La intensidad de este cambio de color se mide utilizando un espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm que va a apoyar cuantificando la capacidad antioxidante de la muestra (28). El DPPH es un compuesto químico estable y sintético, que se encuentra en forma de polvo cristalino de color oscuro, es utilizado ampliamente en el laboratorio para la medición rápida, efectiva y sencilla de la actividad antioxidante, generalmente en extractos vegetales, alimentos y bebidas. Cuando la absorbancia disminuye a 517 nm indica presencia de la actividad antioxidante, ya que confirma que la muestra ha donado electrones o hidrógeno al radical (29). Por lo tanto, esta técnica se considera una herramienta indispensable en la investigación de propiedades antioxidantes en diferentes tipos de muestras (26).

1.3. Cáncer de mama

El cáncer de mama es una enfermedad caracterizada por el crecimiento rápido y la multiplicación acelerada de células anómalas en los tejidos de las glándulas mamarias. Por lo tanto, se considera como neoplasia maligna originada en el tejido mamario. Actualmente es el tipo de cáncer más común diagnosticado en mujeres a nivel mundial a causa de los tumores malignos. Esta enfermedad es muy notable por la mezcla muy compleja de diferentes tipos de células cancerosas que se diferencian en su genética, crecimiento, resistencia y respuesta al tratamiento. Además, están vinculadas a diferentes subtipos moleculares como la ausencia y presencia de los receptores de estrógeno y progesterona y proteína HER2. Esta patología oncológica es originada por la interacción de los factores genéticos (genes), ambientales (exposición a radiaciones) y el estilo de vida (dieta y ejercicio). Asimismo, se debe considerar que es muy difícil su control y prevención (30). En la actualidad la tecnología ha evolucionado mucho con el uso de técnicas de diagnóstico y terapéutica, como la secuencia de ADN, la biocida liquida y la inteligencia artificial que son más precisas y personalizadas como detección precoz, predicción de riesgo y análisis de imágenes. Dichas técnicas representan un avance significativo en el cáncer de mama, ofreciendo herramientas que apoyan a la detección temprana, precisión y diagnóstico. Asimismo, realizar el tratamiento y seguimiento indicado para cada paciente (31).

1.3.1. Epidemiología del cáncer de mama

El cáncer de mama es la neoplasia con mayor prevalencia con diferentes orígenes multifactoriales en mujeres a nivel mundial. Además, es una de las mayores causas de mortalidad en la población; esta situación se agrava especialmente en países en vía de

desarrollo llegando a un 15% de muertes a causa de esta enfermedad, esto se debe a las limitaciones en el diagnóstico y los tratamientos oportunos (32). Aproximadamente, se han reportado 2,26 millones de incidencia en el año 2020 en todo el mundo de esta patología, siendo con mayor prevalencia en el grupo etario. En países desarrollados se ha visto una reducción de defunciones por la detección y diagnóstico oportuno (33). En el Perú se ha reportado una tendencia creciente y más aún ha ido incrementado anualmente alrededor del 0.5 % desde el año 2000 con una prevalencia de 135 casos por los 100,000 habitantes a causa de esta patología. Por lo tanto, es muy necesario reducir drásticamente esta enfermedad aumentando la prevención, la detección temprana y el tratamiento en su debido momento. Asimismo, tener en cuenta que la supervivencia está relacionada con el estadio clínico al momento del diagnóstico (32). La epidemiología del cáncer de mama está determinada por diferentes factores de riesgos divididos en dos factores: no modificables como la edad mayor a 50 años, el sexo femenino, menopausia tardía, la genética y antecedentes familiares; y los modificables como la obesidad en mujeres posmenopáusicas y las terapias hormonales combinadas. Sin embargo, la actividad física y la lactancia materna reduce el riesgo de la enfermedad. Además, de la gran importancia de llevar un estilo de vida saludable para reducir los riesgos (33).

1.3.2. Características del cáncer de mama

Las mamas son órganos glandulares conformados por tejido glandular y adiposo. Su principal función es la producción y secreción de leche materna. En lo que respecta al crecimiento de las mamas se debe principalmente a las hormonas como el estrógeno y progesterona. El cáncer mama se origina en el conducto del tejido glandular de las mamas también conocido como lobulillos en una fase inicial, el tumor no presenta sintomatología, pero si un mínimo riesgo de hacer metástasis, a esto se le conoce como estadio 0. Además, cuando este va creciendo invade el tejido mamario y puede propagarse hacia los ganglios linfático u otro órgano cercano conocida como metástasis distante (34).

El cáncer de mamá puede presentar alteraciones clínicas, esta se puede identificar con abultamiento duro en las mamas o en la axila, sin presencia de dolor en la etapa inicial. Por otro lado, puede ser detectado por el paciente mediante una exploración habitual. Otras características es la presencia de secreción por el pezón, inflamación, edemas, retracción de la piel, piel de naranja, engrosamiento de la piel, cambio de posición y la forma del pezón (35,36). Esta puede ser diagnosticada en etapa temprana con un examen físico mensual que realiza en las mujeres para explorar las mamas mediante visualización y palpación y detectar cualquier tipo de anomalías. Además, se puede realizar mamografía para la obtención de la imagen de la mama, que permitirá ver el tamaño, grosor o la aparición de llagas. Generalmente, se realizan

pacientes asintomáticos a partir de los 40 años edad. Además, es útil para aquellas mamas difíciles de palpar como en pechos extensos. Finalmente, se realizan biopsias del tejido para examinarlas bajo el microscopio las muestras del tejido (37,38).

1.3.3. Clasificaciones del cáncer de mama

El cáncer de mama se puede clasificar según su origen celular (histología), la extensión de la enfermedad (cuadro clínico) y su perfil molecular (subtipos).

- Histológicamente, se puede clasificar en in situ, siendo el lugar donde se ha formado el tumor y como se visualizará al observar en el microscopio, entre estos se encuentra el carcinoma ductal conocido como etapa IV ya que este se inicia en los conductos mamarios y después recién se disemina a otras partes del cuerpo, además de ser el más común con un 80 % de casos, y el carcinoma lobulillar se origina en los lobulillos conocida como glándulas productoras de leche. Asimismo, ambos presentan un desarrollo diferente; mientras que en el invasivo se encuentran el carcinoma ductal y el lobulillar ambos son invasivos (39).
- **Estadio:** Se utiliza el sistema de estadificación del cáncer TNM para la determinación de la etapa de la enfermedad. Este sistema evalúa tres parámetros fundamentales donde se considera la T como el índice de tamaño y la extensión local del tumor primario, la N como la presencia de células cancerosas en los ganglios linfáticos axilares o mamarios y la M indica la presencia de metástasis y propagación en diferentes partes de cuerpo. Además, debemos tener en cuenta que los estadios van desde 0 que es un carcinoma in situ no invasivo hasta el estadio IV que es la presencia de metástasis extensa (40).

Las células cancerígenas cuentan con receptores externos e internos relacionados al estrógeno, progesterona y la proteína HER2. De acuerdo con todos estos receptores el cáncer de mama se clasifica en:

- Luminal A es la que tiene receptores positivos tanto para estrógeno y progesterona positivos. Además, también tiene un buen pronóstico y responde muy bien a la terapia hormonal.
- Luminal B, de subdivide en: luminal B/HER2 positivo, que tiene receptores positivos de progesterona, estrógeno y HER2, pero posee peor pronóstico que el Luminal A, lo mejor que presenta es una buena respuesta a la inmunoterapia y terapia hormonal; el luminal B/HER2 negativo que se encuentra asociado a un alto riesgo de proliferación celular, asimismo tiene respuesta positiva a la hormonoterapia.

- HER 2+ este no tiene receptores positivos para estrógeno, ni para progesterona, pero si tiene para HER2, también posee un pronóstico intermedio y responde muy bien a la inmunoterapia. Sin embargo, tiene poca respuesta a la quimioterapia.
- Triple negativo no cuenta con ningún receptor mencionado anteriormente, siendo el más agresivo. Sin embargo, tienden a responder muy bien a la quimioterapia. Pese a esto recaen fácilmente (41).

1.3.4. Fisiopatología del cáncer de mama

En la patogénesis del cáncer de mama está involucrada la mutación genética y consecuentemente las alteraciones celulares. Teniendo como efecto una proliferación descontrolada de las células del tejido mamario. Este desarrollo tumoral se ve favorecido cuando las alteraciones afectan a los genes, a la reparación del ADN, a la apoptosis y a las vías de señalización intracelular. El mecanismo involucrado corresponde a la alteración de los genes BRCA1 y BRCA2, las cuales son proteínas que tienen la capacidad de reparar el ADN daño, al encontrarse alterados provoca daños en los genes lo cual conlleva el desarrollo de esta patología; de igual manera el gen TP53 conocido como el guardián del genoma, cuya capacidad consiste en detener la división celular cuando ADN esta dañado e incluso involucra al ciclo celular y puede causar apoptosis (30).

Por otra parte, las mutaciones desempeñan un papel importante en el desarrollo del cáncer, siendo su mecanismo principal la producción excesiva del receptor HER2 (asociado a un cáncer más agresivo). Las mutaciones del gen PIK3CA activa las vías de señalización promoviendo el crecimiento celular, la supervivencia tumoral y la resistencia a tratamientos a través de la vía PI3K/Akt/mTOR (42). Asimismo, los cromosomas inestables se caracterizan por sus alteraciones en el número de copias de ADN donde las células tumorales ganan o pierden, este le confiere generar distintos subclones celulares que facilitan la propagación de la enfermedad, la invasión tisular y la resistencia terapéutica (43). Finalmente, las alteraciones de los genes favorecen la aparición de la angiogénesis y factores de crecimiento, escenario que favorece la propagación del cáncer en órganos distantes de la metástasis (42).

1.3.5. Mecanismos de resistencia terapéutica en el cáncer de mama

La resistencia terapéutica en el cáncer de mama es una de las barreras más importantes para el éxito de las quimioterapias, la terapia hormonal y los tratamientos con fármacos. Existen dos tipos de factores de resistencia: los intrínsecos son los que no responden al inicio del tratamiento de las células tumorales, porque ya era resistente de forma natural; y la adquirida es cuando las células cancerígenas, ya han sido expuesto al fármaco y este deja de funcionar por que el tumor llega a mutar y se acostumbra a sobrevivir a la terapia con el fármaco. Los

principales mecanismos incluyen mutaciones en los receptores de estrógeno o HER2 (al mutarse el receptor se activa solo y así crecen solo sin necesitar hormonas y se vuelvan resistente a tratamientos iniciales); mientras que el receptor HER2 (se multiplica en exceso aumentando su producción de proteína y asimismo acelerar la división del tumor, lo bueno es que permite usar terapias dirigidas en contra de ella); la sobre activación de señalización PI3K/AKT/mTOR (regula el crecimiento, supervivencia y proliferación, cuando se activa de una forma descontrolada se suele asociar al desarrollo de esta patología); la alteración en la reparación en el ADN y eludir del sistema inmunitario. Investigaciones recientes han demostrado que las antraciclinas como la doxorrubicina y los taxanos como el paclitaxel son resistentes a los tratamientos quimioterapéuticos. Asimismo, uno de los problemas principales es la acción de la glicoproteína P, es una bomba de expulsión que se encuentra dentro de la célula, encargada de atrapar medicamento y devolverlos afuera y es así que lleva a cabo la disminución de las concentraciones del fármaco dentro de las células. Por lo tanto, el medicamento ya no cumple su función de eliminar a las células cancerosas, al contrario, en lugar de entrar en apoptosis, estas continúan dividiéndose, lo que hace que se mantengan vivas por más tiempo las células tumorales (44). En cuanto, a las terapias dirigidas se ha reportado que el trastuzumab (herceptin) produce resistencia y se relaciona con alteraciones por expresión o estructura en el receptor HER2. En estos casos, es donde la activación de vías de señalización intracelular promueve el crecimiento tumoral en las vías PI3K/AKT, a pesar del uso del tratamiento estas comienzan a multiplicarse. Asimismo, en las terapias hormonales donde la eficacia del fármaco de tamoxifeno se ve afectada por la disminución del receptor del estrógeno (45). Sin embargo, existen otros mecanismos para que se hagan más resistentes como el aumento en la capacidad de repararse el ADN y la capacidad que tienen de impedir la apoptosis. En conclusión, la doxorrubicina, paclitaxel y cisplatino son fármacos oncológicos que disminuye la sensibilidad a los tratamientos (46).

1.4. Cultivo celular

El cultivo celular es una técnica utilizada en la investigación científica con un conjunto de procedimientos esenciales que permiten el crecimiento, mantenimiento y estudio *in vitro* ya sea en células de origen humano, animal o vegetal. Para garantizar el éxito de estas técnicas se requiere de condiciones controladas dentro de un laboratorio siendo muy indispensable la temperatura, atmósfera y medio de cultivo; Este proceso inicia con la obtención de las células de un cultivo primario que pueden ser fragmentos de órganos o tejidos, que se realiza de manera mecánica o enzimática. Seguidamente, las células son transferidas a un medio de cultivo artificial. Asimismo, requiere de soporte vital, el cual contiene nutrientes para su crecimiento.

También las condiciones físicas deben ser aptas para la supervivencia, proliferación y conservación de la célula (47). Por lo tanto, bajo estas condiciones las células se pueden mantener viables para poder dividirse activamente y diferenciarse. En conclusión, el medio de cultivo es muy importante para los estudios de procesos biológicos, patológicos y fisiológicos. Finalmente, sirve para evaluar en los estudios *in vitro* la respuesta celular frente a distintos tratamientos experimentales (48).

1.4.1. Fundamento del cultivo celular

El cultivo celular se basa en la capacidad de mantener el crecimiento de las células *in vitro* bajo condiciones controladas que preserva su viabilidad, metabolismo y características fisiológicas. Estas células se obtienen a partir de tejidos mediante métodos mecánicos o enzimáticos y serán cultivados en un medio que le atribuye los nutrientes necesarios para su supervivencia, proliferación y conservación. Para poder conseguir condiciones controladas se debe tener en cuenta los siguientes pilares como el medio de cultivo debe ser viable y una buena nutrición rica en macronutrientes, micronutrientes y suero fetal bovino u otros. Otro pilar es el control de la homeostasis físico química como mantener la temperatura constante, el pH con su amortiguador y la presión osmótica para evitar que la célula absorba mucha agua y explote o pierda agua y se quede deshidratada. Por otra parte, se tiene que controlar la asepsia total de las cabinas de flujo laminar y la esterilización. Este método nos ayuda a estudiar tratamientos para el cáncer en la parte experimental. Asimismo, también nos permite conocer la resistencia a diferentes fármacos (49,50).

1.4.2. Líneas celulares

Son conjuntos de células de un mismo tipo que han sido adaptadas para su desarrollo y multiplicación de manera ilimitada en el laboratorio. Asimismo, son frecuentemente empleadas en los estudios *in vitro* y utilizadas para reproducir características biológicas claves de la enfermedad. También, observar el comportamiento y respuesta celular bajo un tratamiento controlado, las líneas celulares más utilizadas en cáncer de mama son la MCF-7 y la MDA-MB-231.

1.4.3. Líneas MCF-7

La línea celular MCF-7 fue aislada por Soule en el año 1973, obtenida de una mujer de 69 años que padeció adenocarcinoma de mama metastásico. En la actualidad, es una de las células que se utilizan comúnmente en investigaciones oncológicas (51). Presenta varias propiedades como los receptores de estrógeno alfa que nos permite estudiar la proliferación dependiente de hormonas ya que sus células necesitan estrógeno biológico para poder multiplicarse. Asimismo, tienen una reducida agresividad y es poco invasiva con bajo potencial para hacer

metástasis en pruebas experimentales. No presenta HER2 negativa (52). Por ello es un modelo ideal para realizar evaluaciones tumorales y así demostrar la eficacia del fármaco anticancerígeno. Investigaciones científicas realizadas han reportado que las líneas que son negativas para receptores de factor crecimiento epidérmico (EGF) por ligando y las activadas por proteínas (PAR1) para trombina, así como las líneas que son positivas para el receptor alfa, permiten investigar rutas específicas de señalización celular y la interacción del fármaco en las terapias (53).

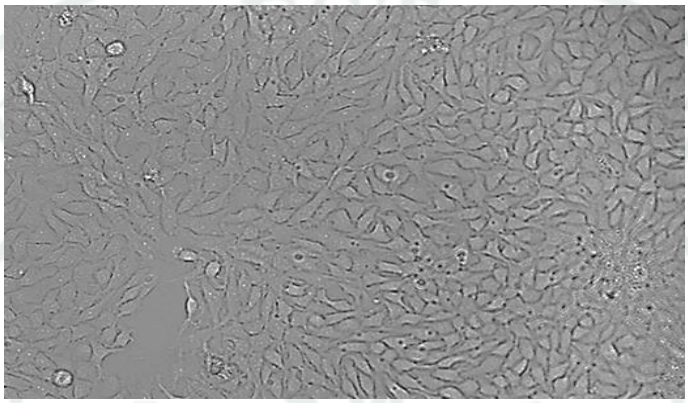


Figura 3. Línea celular MCF-07. *Elaboración propia.

1.4.4. Líneas MDA-MB-231

La línea celular MDA-MB-231 fue obtenida de una paciente mujer de 51 años que padeció un derrame pleural, donde le diagnosticaron adenocarcinoma mamario metastásico, era un cáncer de mama de etapa avanzada en el Centro Oncológico MD Anderson (51). Es la línea más utilizada para estudiar este tipo de patología ya que es el más agresivo e invasivo y muy difícil de darle tratamiento. Asimismo, estas células se caracterizan por ser un modelo denominado cáncer de mama triple negativo, ya que no poseen receptores de estrógeno y progesterona y tampoco tiene la proteína HER2 (54). Es utilizado para estudios de investigación de invasión, migración celular y progresión tumoral. También se usa para desarrollar quimioterapias y controlar la metástasis (53).

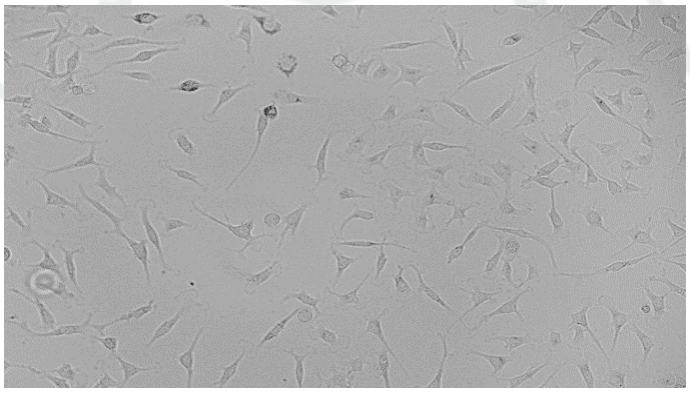


Figura 4. Línea celular MDA-MB-231*Elaboración propia.

1.5. Actividad citotóxica

Es la capacidad que tienen ciertos agentes o células para dañar e inducir a la apoptosis, directa o indirectamente. Asimismo, nos permite evaluar efectos de distintos componentes de los extractos de las plantas sobre la viabilidad celular. Empleando ensayos específicos para poder determinar la muerte celular inducida o el grado de daño (51). Diversas investigaciones han demostrado que los compuestos de origen natural, como es el caso de las saponinas que nos ayudan a determinar la actividad citotóxica, ya que son capaces de producir muerte celular inducida y programada por autofagia. Dicha actividad dependerá estrictamente de su estructura química. Asimismo, en las saponinas se puede encontrar la estructura de sapogeninas que tienen cadenas de azucares y grupos funcionales como la aglicona que han sido evaluadas ampliamente en las líneas celulares tumorales (55). En el ámbito clínico, las terapias de los fármacos citotóxicos empleados en la quimioterapia de cáncer están diseñadas para inducir daño celular en las células malignas. Por lo tanto, su uso puede verse afectado por distintos efectos. Sin embargo, se han visto impulsados en buscar nuevas estrategias terapéuticas para reducir la citotoxicidad sin afectar su potencia del tratamiento (56).

1.5.1. Definición del efecto citotóxico

Se refiere a la capacidad de los agentes que afectan las células vivas provocándoles la inhibición del crecimiento celular o la apoptosis. Agentes químicos, biológicos y físicos son los que alteran las funciones en la síntesis de ácido nucleico y proteínas (51). Desde un enfoque general un componente es considerado citotóxico cuando culmina en la muerte celular, debido a que se altera su estructura química, diferenciándose así de la toxicidad sistemática. Asimismo, la citotoxicidad se evalúa utilizando estudios *in vivo* mediante ensayos que determinan su viabilidad celular ya que es un método selectivo debido a su alto costo, sensibilidad y rendimiento en las células evaluadas (57).

1.5.2. Evaluación *in vitro* de la citotoxicidad

Son pruebas ampliamente utilizadas en cultivos celulares que nos permite determinar sus efectos de una sustancia en la proliferación, viabilidad y morfología celular. Estas pruebas son fundamentales en estudios preliminares para evaluar las dosis seguras del fármaco. En este tipo de estudios la concentración inhibitoria media (IC_{50}) es la que indica las concentraciones de un componente para inhibir un 50 % de la población celular comparándose con un control positivo (58). Por lo tanto, estudios *in vitro* ayudan analizar el nivel celular en la inducción de apoptosis, necrosis y proliferación para medir la viabilidad celular (59).

1.5.2.1. Ensayo MTT

El MTT es un compuesto perteneciente a la familia de sales de tetrazolio, muy soluble en agua de color amarillo.

Este método es colorimétrico que sirve para realizar la evaluación del efecto citotóxico de un agente sobre líneas celulares. Este ensayo se basa en la reducción del MTT o bromuro 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (sal de tetrazolio) que es realizada por la enzima mitocondrial succinato deshidrogenasa. Seguidamente, se convierte en un compuesto de la familia formazán precipitándose en forma de cristales y tomando una coloración púrpura. Asimismo, permite determinar la funcionalidad mitocondrial de las células que se trataron. Este ensayo es usado para evaluar estudios *in vitro*, y también para medir la supervivencia, proliferación y citotoxicidad celular.

Para realizar la cuantificación se suele disolver haciendo uso de un disolvente orgánico como el DMSO o alcohol isopropílico y se procede a medir con un lector de microplacas a una longitud de onda especifica, siendo la medida directamente proporcional al número de células vivas.

Finalmente, el resultado obtenido permite la comparación con diferentes tratamientos y determinar la concentración inhibitoria media (60,61).

CAPÍTULO II

2. LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación se realizó en los laboratorios de la Universidad Católica de Santa María (UCSM), ubicada en la ciudad de Arequipa, donde se realizó la parte experimental del extracto hidroalcohólico de las semillas de *C. pallidicaule* variedad Ramis. Seguidamente, se realizó la evaluación de metabolitos secundarios, la actividad antioxidante y la evaluación de la actividad citotóxica. Las semillas de *C. pallidicaule* variedad Ramis fueron obtenidas en el departamento de Puno en la Estación Experimental Agraria ILLPA (INIA), ubicada en las siguientes coordenadas 15°42'47"S 70°04'35"O a una altitud de 3,827 m.s.n.m., se observa en la **Figura 5**, dicha institución nos garantizó la procedencia y calidad del material vegetal que se utilizó en la investigación. Finalmente, las semillas fueron transportadas a los laboratorios para sus análisis.



Figura 5. Mapa de ubicación de la Estación Experimental Agraria Illpa (INIA), Puno.

*Elaboración propia

3. MATERIALES Y REACTIVOS

3.1. Materiales biológicos

- Semillas de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis
- Líneas celulares de cáncer de mama MCF-7
- Líneas celulares de cáncer de mama MDA-MB-231

3.2. Material, reactivos y equipos

- Placas de 96 pocillos
- Frascos de cultivo celular (flask)
- Puntas estériles para micropipetas
- Micropipetas
- Micropipeta multicanal
- Pera de decantación (250 mL)

- Pipetas serológicas (10 mL y 25 mL)
- Papel filtro Whatman N°1
- Probeta de 25 mL
- Tubos Eppendorf
- Tubo Falcon
- Matraz aforado (25 mL)
- Vasos de precipitados (50 mL)
- Recipiente de multicanales
- Etanol al 50%
- Cloruro férrico deshidratado (0.001 M)
- Buffer acetato (pH 4.4)
- 1,10-fenantrolina (0.015 M)
- EDTA disódico (0.05 M)
- Nitrito de sodio al 5 %
- Cloruro de aluminio al 10 %
- Reactivo de Folin–Ciocalteu
- Carbonato de sodio al 7.5 %
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4, 70 %)
- Vainillina al 8 %
- Hidróxido de sodio 1 M
- Ácido gálico
- Ácido tánico
- Ácido oleanólico
- Quercetina
- DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)
- Trolox
- Tripsina
- DMEM
- Azul de tripán
- MTT
- DMSO (dietilsulfoxido)
- Cabina de Flujo Laminar
- Incubadora CO_2

- Rotavapor
- Baño maría
- Balanza analítica (Ohaus)
- Molino inox
- Vortex
- Espectrofotómetro UV-VIS Varioskan de Thermo Fisher.
- Microscopio invertido

4. MÉTODOS

4.1. Obtención de las semillas de *Chenopodium pallidicaule* Variedad Ramis

Las semillas de *C. pallidicaule* variedad Ramis se recolectó de la Estación Experimental Agraria ILLPA (INIA), ubicada en la región andina de Puno, en el departamento de Puno. Dicha institución nos garantizó su certificación, origen y características del material vegetal. La taxonomía fue evaluada en el Departamento Académico de Biología de la Universidad Nacional de San Agustín, seguidamente, las muestras fueron transportadas al laboratorio de la Universidad Católica de Santa María donde se verificó la inocuidad del producto para su procesamiento, en la **Figura 6** se observa las semillas de *Chenopodium pallidicaule* que serán evaluadas.

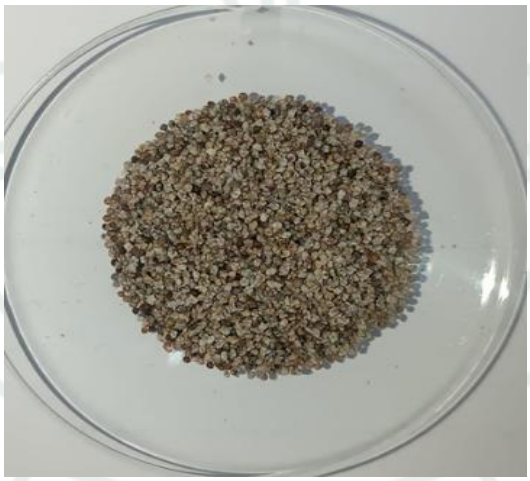


Figura 6. Recolección de Semilla de *Chenopodium pallidicaule*. *Elaboración propia

4.1.1. Extracción del extracto hidroalcohólico

Las semillas se pulverizaron en un molino pulverizador, una vez obtenido nuestro polvo vegetal se pesaron 50 g y se colocó en una pera decantación, se agregó 250 mL de solvente constituido por una mezcla hidroalcohólica al 50 % para la extracción, seguidamente, se cubrió la pera de decantación con papel craff durante 24 horas, una vez transcurrido este tiempo se obtuvo el extracto mediante un goteo constante. Trascurrido este tiempo la mezcla se sometió a una filtración para la separación de los residuos sólidos del líquido. El filtrado obtenido del extracto

hidroalcohólico fue concentrado en un rotavapor a 40 °C, para eliminar el exceso de etanol. Finalmente, el concentrado se llevó a secado mediante un baño maría. el extracto concentrado fue rotulado y conservado en refrigeración a una temperatura de 4°C para su posterior análisis (62).

4.2. Evaluación de metabolitos secundarios

Se procedió a realizar la cuantificación de los principales metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico. Este procedimiento se fundamentó en las reacciones químicas de cambios de coloración por la adición de reactivos. Su cuantificación nos permitió determinar compuestos de gran interés tales como:

4.2.1. Determinación de contenidos de taninos totales

El reconocimiento cuantitativo de taninos totales se realizó mediante el método de cloruro férrico - 1,10-fenantrolina. Se empleó como estándar de referencia ácido tánico con las siguientes concentraciones de 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625 y 7.8125 µg/mL para la elaboración de la curva de calibración.

Asimismo, en placas de 96 pocillos se adicionó 20 µL del extracto, seguida de la adición de 20 µL de la solución de cloruro férrico deshidratado de 0.001 mol/L. La mezcla se incubó durante 1h a 45 °C. Trascurrido el tiempo se agregó 20 µL de solución buffer de acetato a un pH 4.4, 40 µL de solución de 1,10-fenantrolina a 0.015 mol/L, EDTA disódico a 0.05 mol/L y se añadió 96 µL de agua ultrapura. Se observó el desarrollo de la coloración rojo - anaranjado. Finalmente, se midió la absorbancia mediante un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 765 nm.

Para determinar la concentración de taninos en la muestra se calculó por interpolación en la curva de calibración de ácido tánico expresados µg EAT/mL **(Figura 7)** (63,64).

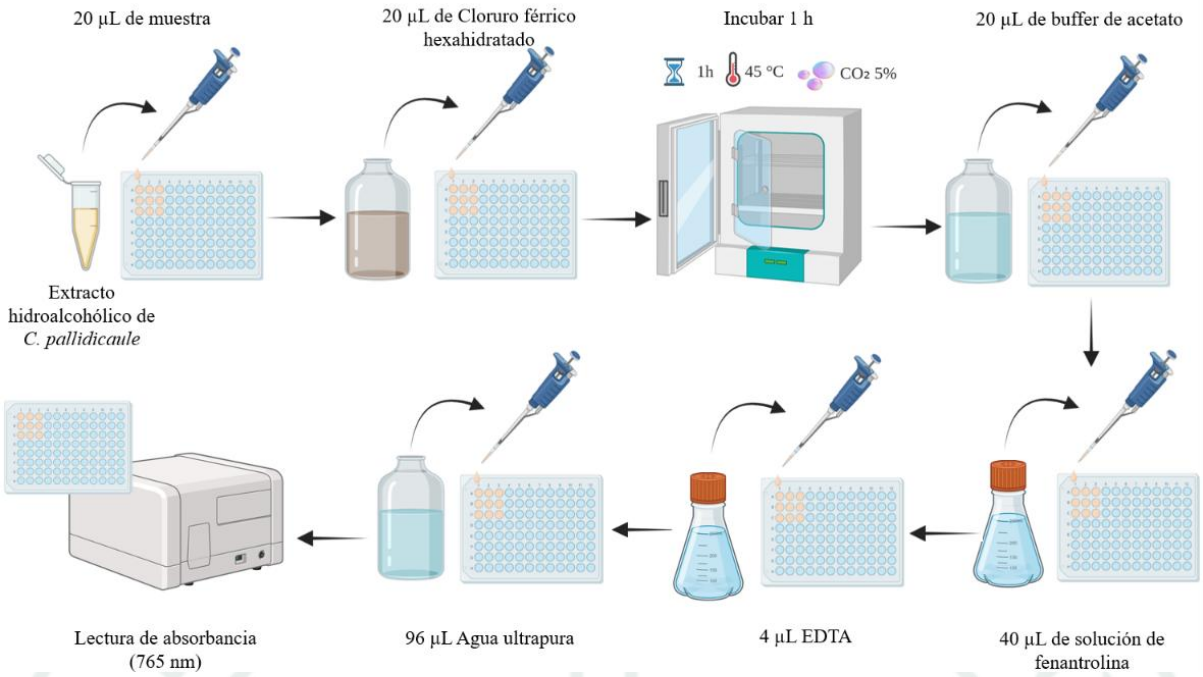


Figura 7. Esquema del procedimiento de determinación taninos. *Elaboración propia, creado con BioRender.com

4.2.2. Determinación de contenidos de flavonoides totales

La cuantificación de flavonoides totales se realizó mediante el método colorimétrico del cloruro de aluminio - nitrito de sodio. Como estándar de referencia se usó quercetina con las siguientes concentraciones 600, 300, 150, 125, 62.5, 31.25 y 15.625 µg/mL para la elaboración de la curva calibración.

Se agregó a placas de 96 pocillos, nitrito de sodio al 5 %, 80 µL de agua ultrapura y 20 µL del extracto. Seguidamente se incubó por 5 min. Terminado el tiempo se adiciono 6 µL de cloruro de aluminio al 10 % y nuevamente se incubó por 6 min. Transcurrido el tiempo de incubación se adiciono 40 µL de hidróxido de sodio a 1 M y un volumen de 46 µL de agua ultrapura. Se observó una coloración amarillo - anaranjado. En un espectrofotómetro UV-Vis se midió la absorbancia a una longitud de onda de 510 nm.

El contenido de flavonoides totales se calculó mediante la ecuación de la recta obtenida de la curva de calibración de la quercetina. Los valores se expresaron como µg EQ/mL **Figura 8)** (65,66).

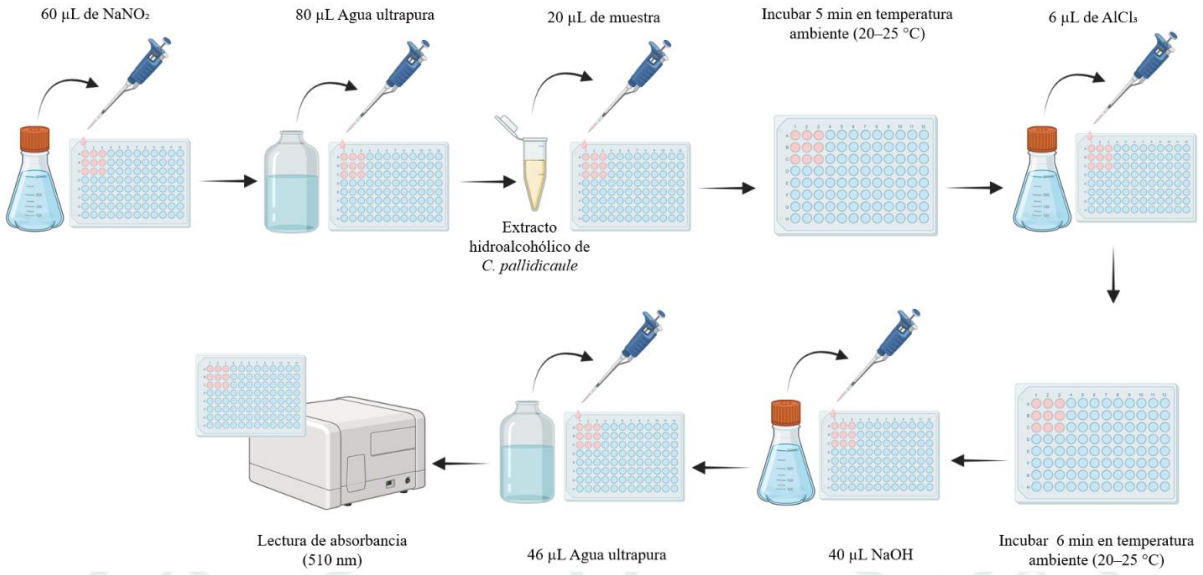


Figura 8. Esquema del procedimiento de determinación de flavonoides. *Elaboración propia, creado con BioRender.com

4.2.3. Determinación de contenidos de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos totales se determinaron empleando el método Folin-Ciocalteu utilizando como estándar de referencia el ácido gálico con las siguientes concentraciones 20, 30, 40, 50, 60 y 80 µg/mL, para la elaboración de la curva de calibración.

Se utilizó placas de 96 pocillos, se adicionó 25 µL de extracto, seguidos de 125 µL del reactivo de Folin–Ciocalteu. Seguidamente, se añadió carbonato de sodio al 7.5 %. La mezcla se incubó en la oscuridad por 15 min. Se observó una coloración azul. Asimismo, se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de 765 nm y se realizaron los cálculos pertinentes para determinar la concentración de fenoles totales.

Los resultados se expresaron en mg GAE/L **(Figura 9)** (67,68).

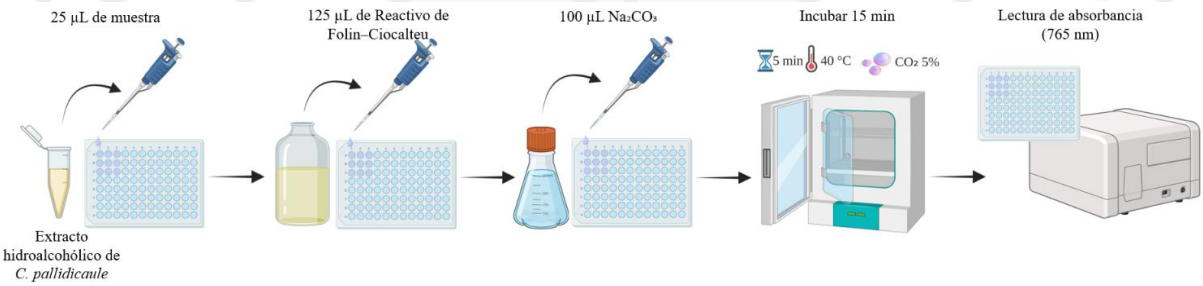


Figura 9. Esquema del procedimiento de determinación de compuestos fenólicos. *Elaboración propia, creado con BioRender.com

4.2.4. Determinación de contenidos de saponinas totales

La cuantificación de saponinas totales se realizó mediante el método colorimétrico de vainillina - ácido sulfúrico, empleando como estándar de referencia el ácido oleanólico con las siguientes concentraciones de 200, 180, 160, 140, 120, 100 y 80 µg/mL para la elaboración de la curva de calibración.

Se utilizó placas de 96 pocillos, se agregó a cada pocillo 20 µL de extracto, 200 µL ácido sulfúrico al 70 %, se añadió la solución de vainillina al 8 %. Se incubó por 20 min durante 45 °C. Terminado el tiempo se procedió a refrigerar por 5 min. Finalmente, se realizó la lectura de la absorbancia utilizando un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de 540 nm. Se realizó sus respectivos cálculos para determinar la concentración de saponinas. Los resultados se expresaron en µg EAO/mL **(Figura 10)** (69,70).

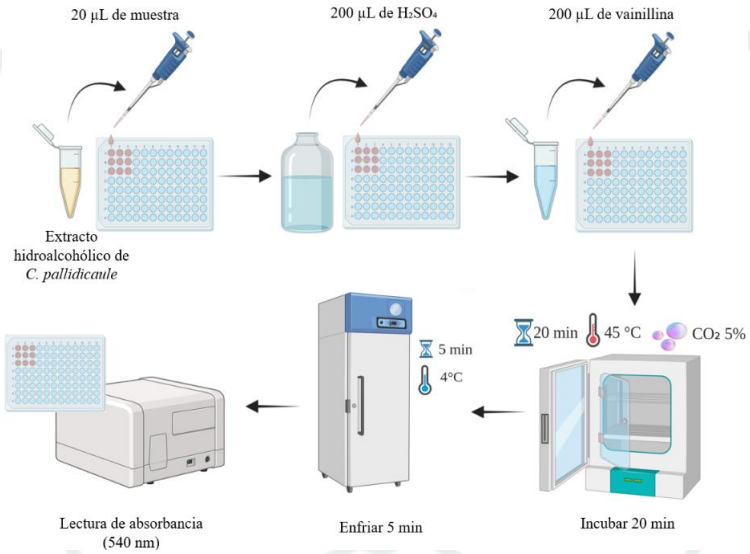


Figura 10. Esquema del procedimiento de determinación de saponinas. *Elaboración propia, creado con BioRender.com

4.3. Determinación de la actividad antioxidante

Se procedió a evaluar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* variedad Ramis utilizando el método DPPH.

4.3.1. Método DPPH

Se determinó este método usando como estándar de referencia Trolox con las siguientes concentraciones de 10, 20, 40, 60, 80, 90 y 100 µM para la elaboración la curva de calibración. Se utilizó placas de 96 pocillos, se añadió a cada pocillo 60 µL del extracto. Seguidamente, se adicionó el reactivo de DPPH a una concentración de 1000 µM. Se dejó incubar en la oscuridad por un tiempo de 30 min para finalizar la reacción. Finalmente se realizó la lectura de la absorbancia utilizando un espectrofotómetro a una longitud de onda de 515 nm y se realizó sus

respectivos cálculos para determinar su capacidad antioxidante. Los valores se expresaron como µmol ET/L **(Figura 11)** (71,72).

Asimismo, se calculó el porcentaje de inhibición del radical DPPH de la actividad antioxidante aplicando la fórmula:

$$\%\ Inhibición = \left(\frac{Abs_c - Abs_m}{Abs_c}\right) \times 100$$

Ecuación 1. Porcentaje de inhibición del radical DPPH

Donde:

Abs_c= Absorbancia de control del patron de referencia

Abs_m= Absorbancia de cada una de la muestra analizada del extracto

Los resultados del DPPH se expresaron como coeficiente de inhibicion

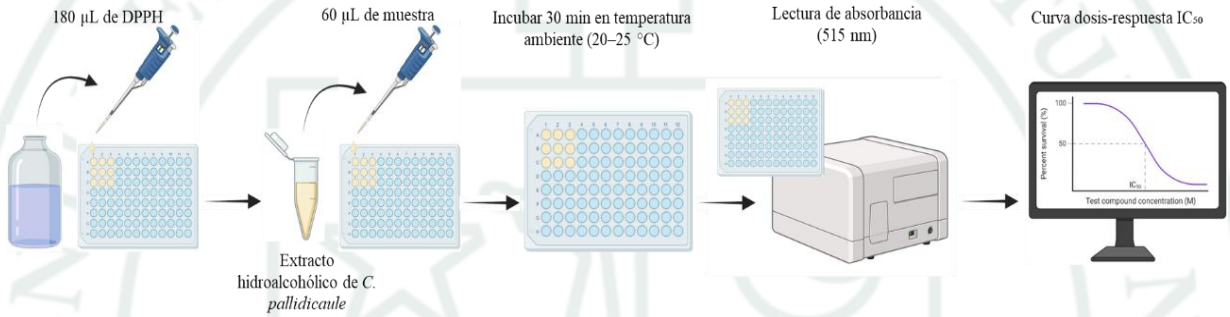


Figura 11. Esquema del procedimiento de determinación de capacidad antioxidante.

*Elaboración propia, creado con BioRender.com

4.4. Cultivo celular

Para realizar el procedimiento se utilizaron líneas celulares de adenocarcinoma mamario MCF-7 y MDA-MB-231 para evaluar el efecto citotóxico de la fase fraccionada del extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* variedad Ramis.

Este procedimiento se realizó bajo condiciones controladas de esterilidad, temperatura y nutrientes. Se inicio haciendo uso de una cabina de flujo laminar en condiciones de esterilidad controlada y el equipo de protección personal apropiado para protegerse de riesgos biológicos, químicos y físicos. Seguidamente se extrajo las células del incubador de CO_2, se procedió a eliminar el medio y se lavó con suero fisiológico. Posterior a ello, se realizó la tripsinización para desprender las células adheridas a la superficie del flask, se llevó a una incubación de 3 min a 37 °C. Una vez desprendidas inmediatamente se agregó el medio DMEM y la suspensión de células se recolecto en un tubo de falcón. Asimismo, se realizó el conteo celular utilizando como colorante el azul de tripán y se procedió a observarlas mediante un microscopio invertido mediante una cámara de neubauer. Posterior a ello, se sembraron las células en placas de 96

pocillos a una concentración de 3 × 10^4 cel./mL. Finalmente, se dejó incubar por un periodo de 24 h a una temperatura de 37 °C para que las células puedan adherirse (55,73).

4.4.1. Prueba de viabilidad celular MTT

Inicialmente se realizó el fraccionamiento con n-butanol para obtención de una fase rica en saponinas, dicha fracción fue llevada a rotavapor para la eliminación y recuperación del solvente. Seguidamente, se procedió a verificar que las células sembradas se encuentren adheridas a las placas después de la incubación durante 24 h. Este procedimiento se realizó para las dos líneas celulares de MCF-7 y MDA-MB-231. Seguidamente, se realizó las pruebas por triplicado y se procedió aplicar el tratamiento a diferentes diluciones seriadas a partir de 800 µg/mL a 3 µg/mL del fraccionamiento rico en saponinas variedad Ramis. Posteriormente, se dejó incubar por 24 h a una temperatura de 37 °C. Finalizado el tiempo se adicionó la solución del reactivo MTT a una concentración 5 mg/mL. Posterior a ello, se dejó incubar durante 3 h a 37 °C, para permitir la formación de cristales de formazán. Transcurrido el tiempo se retiró el medio de los pocillos y se adiciono 100 µL de DMSO y se dejó incubar por un tiempo de 10 min para que se realice la dilución de los cristales. Finalmente, se realizó la lectura de la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de 570 nm, para realizar los respectivos cálculos del porcentaje de células vivas, aplicando la ecuación:

$$\%\, Viabilidad = \left(\frac{Abs_m - Abs_b}{Abs_c - Abs_b}\right) \times 100$$

Ecuación 2. Porcentaje de viabilidad celular

Donde:

Abs_c= Absorbancia de control

Abs_m= Absorbancia de muestra

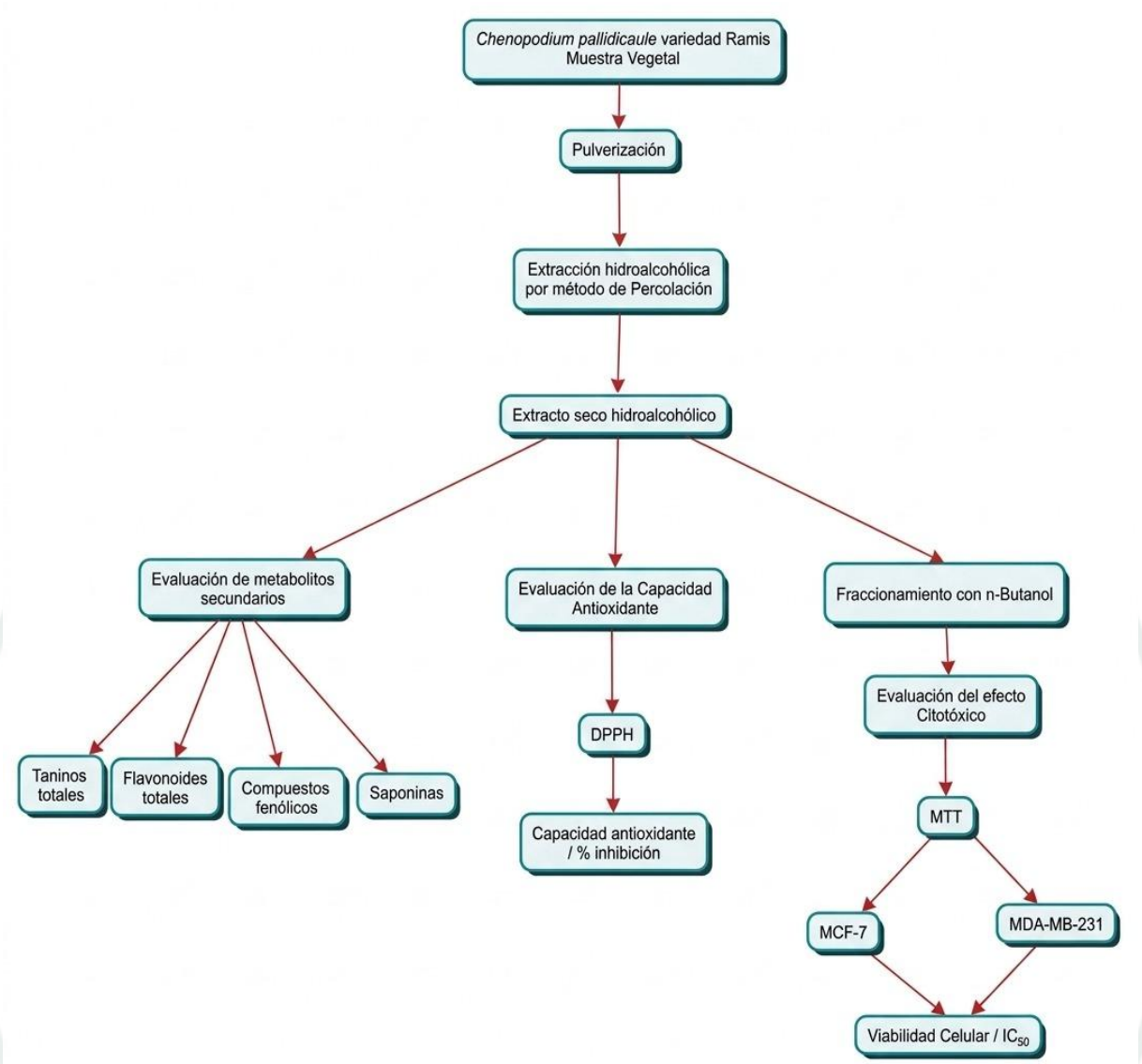
Abs_b= Absorbancia de blanco

Con los datos obtenidos se elaboró la curva de dosis respuesta para determinar la concentración inhibitoria media (IC_{50}). Además, se utilizó como control positivo la doxorrubicina (73,74).

4.5. Análisis estadístico

Todos los ensayos se realizaron por triplicado a diferentes concentraciones seriadas del extracto. Seguidamente, con los datos obtenidos se sacó el promedio, desviación estándar. Además, se evaluó el IC_{50} y así determinar su efecto citotóxico con el método de MTT, los datos obtenidos se transportaron en el software. Finalmente, se elaboró la curva de dosis respuesta no lineal (75).

4.6. Flujograma de la obtención y evaluación citotóxica de la muestra



CAPÍTULO III

5. RESULTADOS

5.1. Obtención del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule*

En la obtención del extracto de las semillas de *C. pallidicaule* variedad Ramis se trabajó con el método de percolación obteniendo un extracto liquido de color café claro, como se observa en la **Figura 12**. Posteriormente, el extracto que se obtuvo se llevó al rotavapor con la finalidad de eliminar el solvente hidroalcohólico. Asimismo, obtener el extracto seco de la concentración.



Figura 12. Proceso de extracción hidroalcohólica de *C. pallidicaule* variedad Ramis mediante el método de percolación. *Elaboración propia

Posteriormente a la etapa de concentración, se pudo observar en el extracto un cambio de coloración donde paso de café claro a un tono café ligeramente oscuro con una consistencia viscosa y apariencia semisólida. Seguidamente se pudo determinar la cantidad de extracto obtenido, utilizando el método gravimétrico para poder determinar el extracto seco. Se procedió a pesar el vaso precipitado vacío, el peso del extracto concentrado, la cantidad obtenida de extracto se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$Extracto\ obtenido\ (g) = \ Peso\ del\ vaso\ con\ extracto\ - \ Peso\ del\ vaso\ vacío$$

$$Extracto\ obtenido\ (g) = \ 102.7624\ g\ - \ 98.7055\ g$$

$$Extracto\ obtenido\ = \ 4.0569\ g$$

Obteniendo así 4.0569 g del extracto etanólico seco para poder hallar el porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico:

$$\%\ Rendimiento = \frac{Peso\ del\ extracto\ seco\ final\ (g)}{Peso\ de\ la\ planta\ seca\ inicial\ (g)} \times 100$$

$$\%\ Rendimiento = \frac{4.0568\ g}{50\ g} \times 100$$

$$\%\ Rendimiento = \ 8.1137\%$$

El extracto de *C. pallidicaule* variedad Ramis alcanzó un rendimiento de 8.1137 % con respecto a la materia prima inicial.

5.2. Evaluación de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule*

La cuantificación de los metabolitos secundarios que presentó el extracto hidroalcohólico *C. pallidicaule,* se llevó a cabo mediante el método espectrofotométrico, donde se revelaron el contenido de compuestos fenólicos totales, saponinas, flavonoides y taninos, evidenciada por la coloración. Los resultados obtenidos se calcularon mediante la ecuación de la curva de calibración del estándar.

5.2.1. Determinación de contenido de taninos

En la **Tabla 2** Se tomó concentraciones de 500; 250; 125; 62.5; 31.25; 15.625; 7.8125 µg/mL de ácido tánico (sustancia pura), se muestran las absorbancias y los valores promedio, las cuales fueron medidos mediante espectrofotometría. A partir de estos datos obtenidos, se construyó la curva de calibración del ácido tánico, mostrada en la **Figura 13**, la cual permitió determinar el contenido de taninos del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis mediante el método colorimétrico con cloruro férrico ($FeCl_3$) - 1,10 fenantrolina. Con los datos obtenidos en el grafico se observó la relación entre concentración del estándar en el eje horizontal *x* y la absorbancia en el eje vertical *y*. Los datos experimentales mostraron una tendencia lineal creciente, indicando que a medida que aumentó la concentración del estándar, también se incrementó la absorbancia medida. El ajuste de los datos permitió obtener la ecuación de regresión:

$$y = 0.0045x + 0.1279$$

Con un coeficiente de determinación $R^2 = 0.975$, lo que indicó que tiene un 97.5 % de confiabilidad, un adecuado ajuste al modelo de regresión lineal y una correlación entre la concentración del estándar y la respuesta espectrofotométrica registrada a 765 nm, por lo tanto, podemos decir que es adecuada para la cuantificación de taninos en el extracto que se analizó.

Tabla 2. Absorbancias para la curva de calibracion del ácido tanico para la determinación de taninos totales

Concentración EAT (µg/mL)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Promedio ± DE
500	2.494	2.211	2.053	2.253 ± 0.223
250	1.537	1.422	1.440	1.466 ± 0.062
125	0.909	0.785	0.795	0.830 ± 0.069
62.5	0.486	0.370	0.419	0.425 ± 0.058
31.25	0.232	0.222	0.254	0.236 ± 0.016
15.625	0.118	0.111	0.115	0.115 ± 0.004
7.8125	0.051	0.044	0.067	0.054 ± 0.012

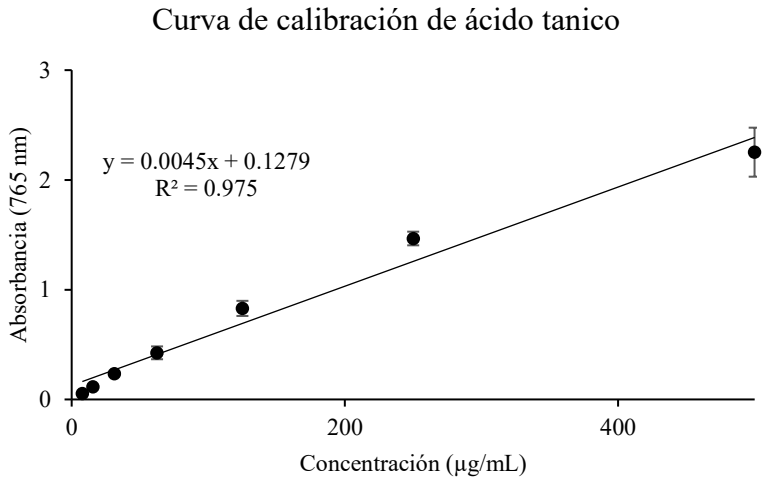


Figura 13. Curva de calibración para la determinación de taninos

Como se observa en la **Tabla 3**, las absorbancias registradas para el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis a 765 nm es 0.5467, 0.6091 y 0.4539, obteniéndose una absorbancia promedio de 0.5365. A estos valores de absorbancias se aplicó la regresión lineal para obtener la ecuación de la recta para calcular la concentración correspondiente. A partir de dicha ecuación se determinó que el contenido de taninos en el extracto fue de 454.04 µg equivalentes de ácido tánico por mL de extracto (µg EAT/mL), donde se consideró una dilución de 1:5. Estos resultados evidenciaron la presencia de taninos en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis.

Tabla 3. Resultados de la concentración total de taninos en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis

Extracto Hidroalcohólico	***Chenopodium pallidicaule* Ramis**
Absorbancias (765 nm)	0.5467
	0.6091
	0.4539
Promedio	0.5365
µg eq. AT/mL de extracto	454.04 ± 0.078

5.2.2. Determinación de contenidos de flavonoides

En la **Tabla 4** se presentaron las absorbancias y los valores promedio de las soluciones de calibración correspondientes a concentraciones de quercetina de 600; 300; 150; 125; 62.5; 31.25; 15.625 µg/mL, las cuales fueron medidas mediante espectrofotometría. A partir de estos datos, se construyó la curva de calibración de quercetina, mostrada en la **Figura 14**, la cual permitió determinar el contenido de flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* mediante el método colorimétrico con cloruro de aluminio ($AlCl_3$) – nitrito de sodio ($NaNO_3$). En la gráfica se observó la relación entre la concentración del estándar de quercetina (eje *x*) y la absorbancia promedio registrada (eje *y*). Los datos experimentales nos mostraron una tendencia lineal creciente, indicando que a medida que aumentó la concentración del estándar, también se incrementó la absorbancia medida.

El ajuste de los datos permitió obtener la ecuación de regresión:

$$y = 0.0005x + 0.0024$$

Con un coeficiente de determinación $R^2 = 0.9909$, lo que indicó un adecuado ajuste al modelo de regresión lineal y una fuerte correlación entre la concentración del estándar y la respuesta espectrofotométrica registrada a 510 nm durante el análisis espectrofotométrico. Por lo tanto, la curva de calibración obtenida fue adecuada para la cuantificación de flavonoides en el extracto analizado.

Tabla 4. Absorbancias para la curva de calibración de quercetina para la determinación de flavonoides totales

Concentración QE (µg/mL)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Promedio ± DE
600	0.281	0.300	0.313	0.298 ± 0.016
300	0.159	0.168	0.172	0.166 ± 0.006
150	0.097	0.099	0.084	0.093 ± 0.008
125	0.058	0.061	0.049	0.056 ± 0.006
62.5	0.030	0.027	0.021	0.026 ± 0.004
31.25	0.014	0.017	0.011	0.014 ± 0.003
15.625	0.010	0.012	0.011	0.011 ± 0.001

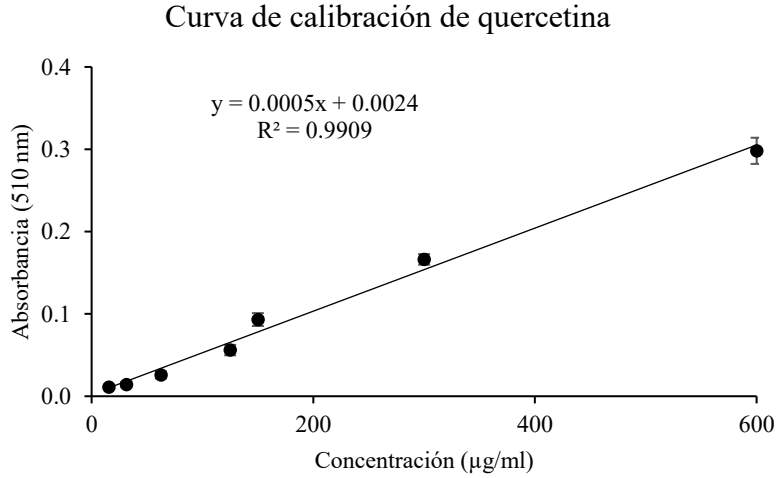


Figura 14. Curva de calibración para la determinación de flavonoides

Como se observa en la **Tabla 5**, las absorbancias registradas para el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis a 510 nm fueron 0.0418, 0.0281 y 0.0320, obteniéndose una absorbancia promedio de 0.0340. Este valor se encontró dentro del rango de la curva de calibración, lo que permitió aplicar la ecuación de regresión para calcular la concentración correspondiente. A partir de dicha ecuación se determinó que el contenido de flavonoides en el extracto fue de 316 mg equivalentes de quercetina por litro de extracto (µg EQ/mL). Estos resultados evidenciaron la presencia de flavonoides en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis. Además, cabe mencionar que para calcular la concentración final se hizo en una dilución de 1:5.

Tabla 5. Resultados de la concentración total de flavonoides en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis

Extracto Hidroalcohólico	***Chenopodium pallidicaule* Ramis**
Absorbancias (510 nm)	0.0418
	0.0281
	0.0320
Promedio	0.0340
µg eq. Q/mL de extracto	316.00 ± 0.0071

5.2.3. Determinación de contenido de Compuestos fenólicos

En la **Tabla 6** se presentaron las absorbancias y los valores promedio de las soluciones de calibración correspondientes a concentraciones de ácido gálico de 20; 30; 40; 50; 60; 80 µg/mL, las cuales fueron medidas mediante espectrofotometría. Partiendo de estos datos, se construyó una curva de calibración de ácido gálico, expuesta en la **Figura 15**, la cual nos permitió conocer el contenido de compuestos fenólicos totales en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* mediante la técnica de Folin-Ciocalteu. En la gráfica se observó la relación entre la concentración del estándar de ácido gálico (eje *x*) y la absorbancia promedio registrada (eje *y*). Los datos experimentales mostraron una tendencia lineal ascendente, es decir, que a medida que aumentó la concentración del estándar, también se incrementó la absorbancia medida.

$$y = 0.0045x - 0.068$$

El modelo lineal exhibió un coeficiente de determinación $R^2 = 0.9576$. lo que reveló un adecuado ajuste al modelo de regresión lineal, evidenciando una fuerte correlación entre la concentración del estándar y la respuesta espectrofotométrica registrada a 765 nm durante el análisis espectrofotométrico. Por lo tanto, la curva de calibración obtenida es adecuada para la cuantificación de compuestos fenólicos en el extracto analizado.

Tabla 6. Absorbancias para la curva de calibracion del ácido gálico para la determinación de compuestos fenolicos totales

Concentración GAE (µg/mL)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Promedio ± DE
20	0.001	0.004	0.002	0.002 ± 0.002
30	0.061	0.074	0.070	0.068 ± 0.006
40	0.111	0.119	0.110	0.113 ± 0.005
50	0.186	0.186	0.191	0.188 ± 0.003
60	0.216	0.218	0.221	0.219 ± 0.003
80	0.267	0.272	0.270	0.269 ± 0.003

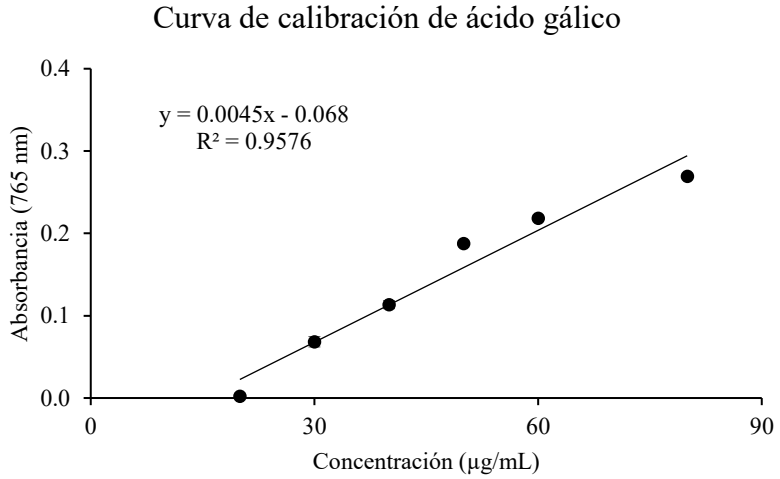


Figura 15. Curva de calibración para la determinación de compuestos fenólicos

En la **Tabla 7**, se observa las absorbancias registradas para el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis a una longitud de onda a 765 nm fueron de 0.1792, 0.1826 y 0.1725, obteniéndose una absorbancia promedio de 0.1781. Este valor de absorbancia se encuentra dentro del rango de la curva de calibración, lo que permitió aplicar la ecuación de regresión para calcular la concentración correspondiente. Seguidamente, se determinó que el contenido de compuestos fenólicos en el extracto fue de 1093.778 µg equivalentes de ácido gálico por mL de extracto (µg EAG/mL). Estos resultados evidenciaron la presencia de compuestos fenólicos en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis. Cabe mencionar que para calcular la concentración final se hizo una dilución de 1:20.

Tabla 7. Resultados de la concentración total de compuestos fenólicos en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis

Extracto Hidroalcohólico	*Chenopodium pallidicaule* Ramis
Absorbancias (765 nm)	0.1792
	0.1826
	0.1725
Promedio	0.1781
µg eq. GA/mL de extracto	1093.778 ± 0.005

5.2.4. Determinación de contenido de Saponinas

En la **Tabla 8** se presentaron las absorbancias y los valores promedio de las soluciones de calibración correspondientes a concentraciones de ácido oleanólico de 200; 180; 160; 140; 120; 100; 80 µg/mL, las cuales fueron medidas mediante espectrofotometría. Tomando como base estos datos, se construyó la curva de calibración de ácido oleanólico, mostrada en la **Figura 18,** la cual nos permitió determinar el contenido de saponinas en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* mediante el ensayo colorimétrico vainillina-ácido sulfúrico. En la gráfica se observó la relación entre la concentración del estándar de ácido oleanólico (eje *x*) y la absorbancia promedio registrada (eje *y*). Los datos experimentales muestran una tendencia lineal ascendente, lo que indica que a medida que aumenta la concentración del estándar también se incrementa la absorbancia medida.

El ajuste de los datos nos permitió obtener la ecuación de regresión:

$$y = 0.0006x + 0.0598$$

Con un coeficiente de determinación $R^2 = 0.9983$, este valor indica un adecuado ajuste de los datos al modelo de regresión lineal, evidenciando una fuerte correlación entre la concentración del estándar y la respuesta espectrofotométrica registrada a 540 nm durante el análisis espectrofotométrico. Por lo tanto, la curva de calibración obtenida es adecuada para la cuantificación de saponinas en el extracto analizado.

Tabla 8. Absorbancias para la curva de calibracion del ácido oleanólico para la determinación de saponinas totales

Concentración EAO (µg/mL)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Promedio ± DE
200	0.174	0.178	0.172	0.175 ± 0.003
180	0.163	0.166	0.162	0.164 ± 0.002
160	0.153	0.156	0.151	0.153 ± 0.002
140	0.141	0.143	0.135	0.140 ± 0.004
120	0.129	0.127	0.126	0.128 ± 0.002
100	0.112	0.125	0.120	0.119 ± 0.007
80	0.105	0.111	0.101	0.106 ± 0.005

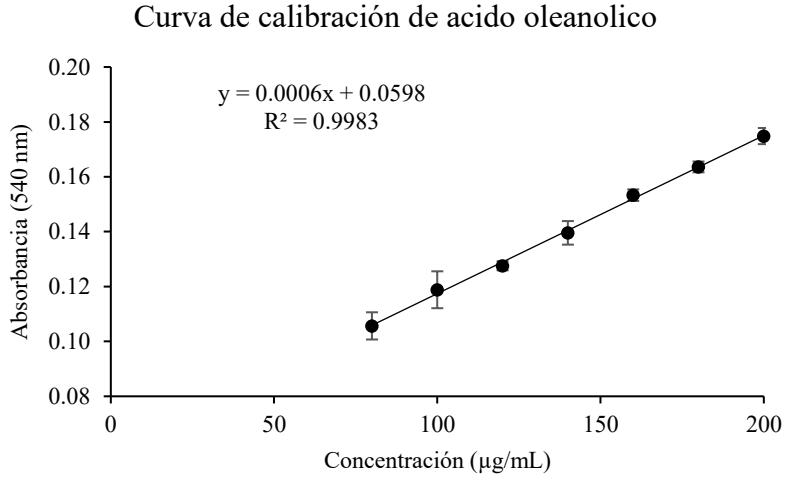


Figura 16. Curva de calibración para la determinación de saponinas

Se observa en la **Tabla 9**, las absorbancias del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis a 540 nm, los fueron 0.1411, 0.1360 y 0.1381, obteniéndose una absorbancia promedio de 0.1384. Este valor de absorbancia se encuentra dentro del rango de la curva de calibración, lo que nos permitió aplicar la ecuación de regresión para calcular la concentración. A partir de dicha ecuación, se determinó el contenido de saponinas en el extracto consiguiendo un valor de 655.278 mg equivalentes de ácido oleanólico por mL de extracto (µg EAO/mL). Estos resultados indican la presencia de saponinas en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis. Además, cabe resaltar que para calcular la concentración final se hizo una dilución de 1:5.

Tabla 9. Resultados de la concentración total de saponinas en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis

Extracto Hidroalcohólico	***Chenopodium pallidicaule* Ramis**
Absorbancias (540 nm)	0.1411
	0.1360
	0.1381
Promedio	0.1384
µg eq. AO/mL de extracto	655.278 ± 0.0026

5.3. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH en el extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule*

En la **Tabla 10** se puede observar las absorbancias y los valores promedio de las soluciones de calibración correspondientes a concentraciones de Trolox de 10; 20; 40; 60; 80; 90; 100 µM, las cuales fueron medidas mediante espectrofotometría. A partir de estos datos, se construyó la curva de calibración, mostrada en la **Figura 17**, se realizó la determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* mediante la técnica del radical libre DPPH. En la gráfica se observó la relación entre la concentración de Trolox (eje *x*) y la absorbancia promedio registrada (eje *y*). Los datos experimentales muestran una tendencia lineal decreciente, indicando que a medida que aumenta la concentración de extracto se reduce la absorbancia de DPPH debido a la inhibición del radical.

$$y = -0.0051x + 0.8361$$

Se obtuvo un coeficiente de determinación $R^2 = 0.9972$, este valor indica un adecuado ajuste de los datos al modelo de regresión lineal, evidenciando una relación entre la concentración del estándar Trolox y la absorbancia registrada a 515 nm durante el análisis. Por lo tanto, la curva de calibración obtenida es la adecuada para la determinación de la capacidad antioxidante mediante el ensayo DPPH.

Tabla 10. Absorbancias para la curva de calibracion de Trolox para la determinación de la actividad antioxidante

Concentración TE (µM)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Promedio ± DE
10	0.784	0.776	0.776	0.779 ± 0.004
20	0.733	0.740	0.740	0.738 ± 0.004
40	0.635	0.624	0.629	0.629 ± 0.005
60	0.536	0.530	0.533	0.533 ± 0.003
80	0.439	0.435	0.437	0.437 ± 0.002
90	0.357	0.355	0.356	0.356 ± 0.001
100	0.329	0.325	0.322	0.325 ± 0.004

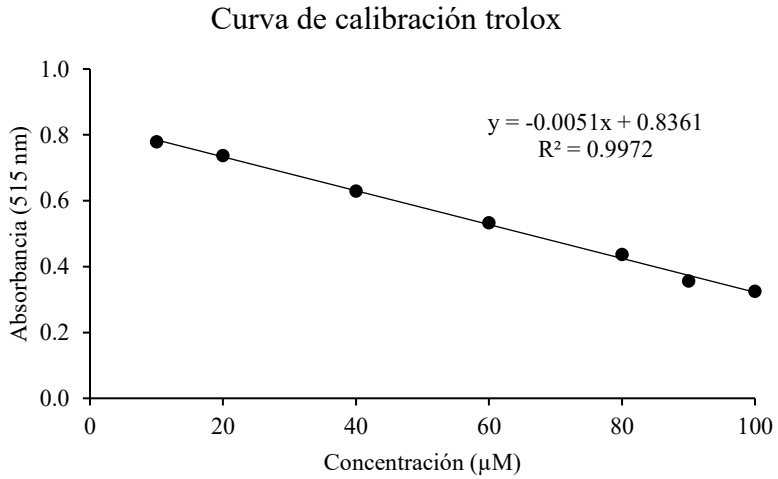


Figura 17. Curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante mediante el método DPPH

Se observa en la **Tabla 11**, las absorbancias registradas para el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis a 515 nm fueron 0.3540, 0.2774 y 0.3689, obteniéndose una absorbancia promedio de 0.3334. Este valor de absorbancia se encuentra dentro del rango de la curva de calibración, lo que permitió aplicar la ecuación de regresión para calcular la concentración correspondiente. A partir de dicha ecuación se determinó que la actividad antioxidante del extracto fue de 2956.86 µmol equivalentes de Trolox por mL de extracto (µmol TE/mL). Estos resultados indican la presencia de compuestos con actividad antioxidante en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis. Además, cabe mencionar que para calcular la concentración final se hizo una dilución de 1:20.

Tabla 11. Resultados de la actividad antioxidante en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis

Extracto	***Chenopodium pallidicaule* Ramis**
Absorbancias a 515 nm	0.3540
	0.2774
	0.3689
Promedio	0.3334
µmol eq. T/L de extracto	1971.24 ± 0.0491

5.3.1. Porcentaje de inhibición del radical DPPH

Se determinó el porcentaje de inhibición de radicales libres mediante la siguiente ecuación:

$$\%\ Inhibición = \left(\frac{Abs_c - Abs_m}{Abs_c}\right) \times 100$$

Donde:

- Abs_c: Absorbancia de control del patrón de referencia (0.8322).
- Abs_m: Absorbancia de la muestra

Se hace hincapié que el control del DPPH sin el extracto fue de 0.8322, obteniendo todos los datos correspondientes se remplazó en la ecuación:

$$\%\ Inhibición = \left(\frac{0.8322 - 0.3540}{0.8322}\right) \times 100$$

$$\%\ Inhibición = 57.46\%$$

$$\%\ Inhibición = \left(\frac{0.8322 - 0.2774}{0.8322}\right) \times 100$$

$$\%\ Inhibición = 66.67\%$$

$$\%\ Inhibición = \left(\frac{0.8322 - 0.3689}{0.8322}\right) \times 100$$

$$\%\ Inhibición = 55.67\%$$

Tabla 12. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* variedad Ramis

Extracto	Absorbancias (515 nm)	% inhibición
***Chenopodium pallidicaule* Ramis**	0.3540	57.46
	0.2774	66.67
	0.3689	55.67
Promedio	0.3334 ± 0.0491	59.93

Como se observa en la **Tabla 12**, las absorbancias registradas para el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis a 515 nm fueron 0 3540, 0.2774 y 0.3689, obteniéndose una absorbancia promedio de 0.3334. A partir de estos valores se calcularon porcentajes de inhibición del radical DPPH de 57.46 %, 66.67 % y 55.67 %, respectivamente, con un promedio de inhibición de 59.93 %. Estos resultados indican que el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis presenta capacidad antioxidante frente al radical libre DPPH, evidenciada por su capacidad de inhibir más del 59 % del radical evaluado en el ensayo.

5.4. Evaluación de la actividad citotóxica mediante el ensayo MTT

5.4.1. MCF-7

Los resultados obtenidos en el ensayo MTT para la línea celular MCF-7 se presentan en la **Tabla 13**. Los datos muestran que la fase fraccionada del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis no presentó un comportamiento dependiente de la concentración sobre la viabilidad celular. Cada concentración fue evaluada por triplicado, registrándose los valores de absorbancia, el promedio, la desviación estándar y el porcentaje de viabilidad celular. Los resultados mostraron que a concentraciones bajas de 3 a 13 µg/mL, la viabilidad fue elevada entre 98.64 y 91.39 % lo cual nos indica que el extracto no causo daño en las células; para las concentraciones de 25 a 100 µg/mL se observa una ligera disminución en la viabilidad celular con valores que comprenden entre 84.37 y 83.97 % mostrando un efecto citotóxico puntual ya que la muerte celular no es elevada; para las concentraciones entre 200 y 800 µg/mL se visualizó un aumento de la viabilidad celular.

Tabla 13. Resultados del ensayo de viabilidad celular en la línea MCF-7 del fraccionamiento del extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* variedad Ramis.

Concentración del extracto (µg/mL)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Promedio ± DE	% Viabilidad
3	0.995	0.727	0.906	0.876 ± 0.137	98.642
6	0.941	0.742	0.829	0.837 ± 0.100	94.324
13	0.803	0.819	0.812	0.811 ± 0.008	91.392
25	0.732	0.744	0.771	0.749 ± 0.020	84.375
50	0.842	0.690	0.709	0.747 ± 0.083	84.176
100	0.952	0.637	0.648	0.746 ± 0.179	83.977
200	1.129	0.632	0.660	0.807 ± 0.279	90.882
400	1.305	1.071	1.079	1.152 ± 0.133	129.744
800	1.189	1.213	1.168	1.190 ± 0.022	134.036

En la **Figura 18** se observar la gráfica de la curva de dosis-respuesta de la fase fraccionada del extracto *C. pallidicaule* variedad Ramis en la línea celular de MCF-7, los resultados indica que las concentraciones de 3 a 800 µg/mL mantienen la viabilidad celular, lo que permite considerar que el extracto no es citotóxico. Asimismo, podemos observar que la curva no es lineal porque no desciende al umbral del 50%, por lo tanto, no fue posible determinar el IC_{50} lo que confirma que el fraccionamiento del extracto carece de actividad citotóxica bajo las condiciones evaluadas.

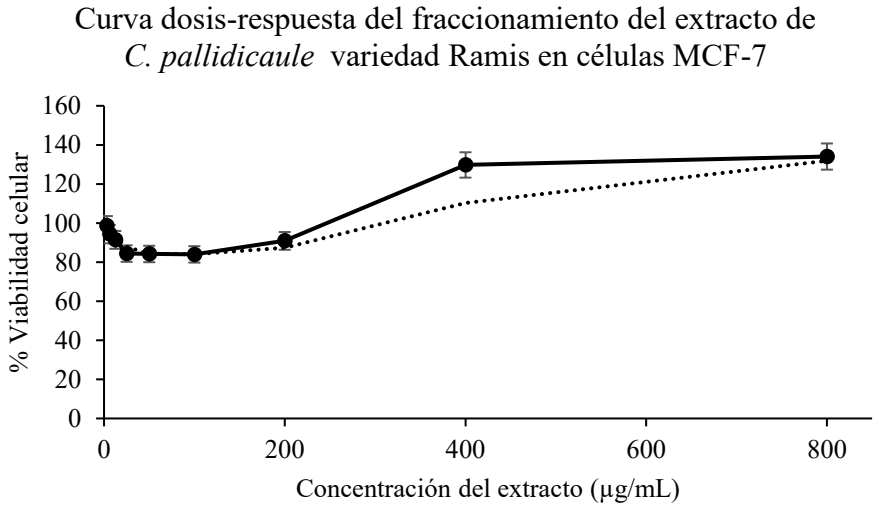


Figura 18. Curva dosis-respuesta del fraccionamiento del extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* variedad Ramis sobre la viabilidad celular de la línea MCF-7

5.4.2. MDA-MB-231

Los resultados obtenidos en el ensayo MTT para la línea celular MDA-MB-231 se presentan en la **Tabla 14**. Estos datos muestran que la fase fraccionada del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis no presentó un comportamiento dependiente de la concentración sobre la viabilidad celular, cada concentración fue evaluada por triplicado, registrándose los valores de absorbancia, promedio, desviación estándar y porcentaje de viabilidad celular en un rango de 3 a 800 µg/mL. Podemos observar que en las concentraciones de 3 a 25 µg/mL la viabilidad celular es alta ya que se mantuvo por encima del 95.35% a 83.21 µg/mL, lo cual se considera un efecto no toxico; en las concentraciones de 50 a 100 µg/mL su porcentaje de viabilidad esta encima del 78 % es decir que a pesar que tenga concentraciones más altas no causa daño a las células, demostrando así que no posee un efecto citotóxico sobre la línea celular MDA-MB-231.

Tabla 14. Resultados del ensayo de viabilidad celular en la línea MDA-MB-231 del fraccionamiento del extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* variedad Ramis.

Concentración del extracto (µg/mL)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Promedio ± DE	% Viabilidad
3	0.378	0.466	0.276	0.373 ± 0.095	95.357
6	0.400	0.389	0.303	0.364 ± 0.053	92.938
13	0.356	0.361	0.271	0.329 ± 0.050	84.117
25	0.344	0.409	0.224	0.326 ± 0.094	83.215
50	0.352	0.293	0.279	0.308 ± 0.039	78.642
100	0.360	0.303	0.240	0.301 ± 0.060	76.880
200	0.423	0.377	0.280	0.360 ± 0.073	92.070
400	0.471	0.700	0.420	0.530 ± 0.149	135.444
800	0.447	0.742	0.470	0.553 ± 0.164	141.281

En la **Figura 19** se puede observar la gráfica de la curva de dosis-respuesta de la fase fraccionada del extracto *C. pallidicaule* variedad Ramis sobre la viabilidad celular en el MDA-MB, donde se demuestra que en las concentraciones de 3 a 800 µg/mL se mantiene una viabilidad alta, lo que permite considera que el fraccionamiento del extracto no es citotóxico, dado que su curva no es lineal y su viabilidad se mantiene por encima del umbral al 75% por lo tanto, no se pudo determinar el IC_{50} lo que nos confirma que el extracto posee de actividad citotóxica bajo las condiciones evaluadas.

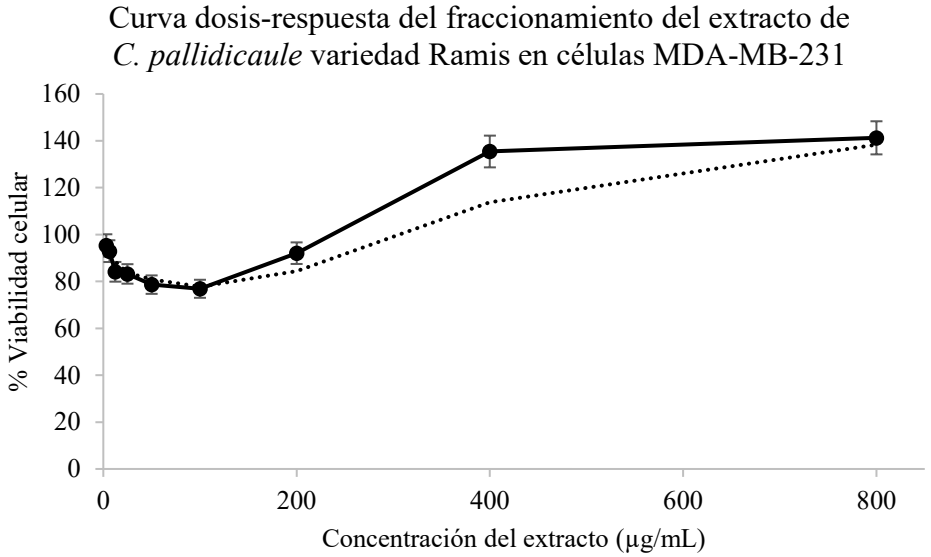


Figura 19. Curva de dosis-respuesta del fraccionamiento del extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* variedad Ramis sobre la viabilidad celular de la línea MDA-MB-231

CAPÍTULO IV

6. DISCUSIONES

En el trabajo actual se encontró una concentración con un valor de 454.037 µg EAT/mL de taninos en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis, esto se debe principalmente a la presencia de los taninos por su capacidad de interacción redox; en comparación de lo reportado por Zhou *et al.* (2023) (76) quienes investigaron el *Chenopodium quinoa* (salvado de quinua) quienes obtuvieron un 0.30 % de contenido de taninos, se puede evidenciar que *Chenopodium pallidicaule* presenta una concentración inferior, esta diferencia se puede dar por las condiciones de la metodología de extracción y la técnica utilizada o incluso puede estar asociada al contenido del mismo vegetal.

Se obtuvo mayor contenido de flavonoides en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis, con un valor de 316.000 µg QE/mL, esto se debe a la capacidad de contrarrestar radicales libres, en comparación a lo reportado por Roshani *et al.* (2024) (77) quienes obtuvieron el valor de 3.22 mg QE/100 g de contenido de flavonoides siendo muy bajos en *Chenopodium quino* (la quinua negra), la diferencia se debe a la metodología que utilizaron (método de ultrasonido) para la extracción de *C. quino* considerándose un proceso activo; y para la extracción de *C. pallidicaule* el método de percolación se considera un proceso pasivo.

En el presente estudio se observó una elevada concentración de compuestos fenólicos en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis con un valor de 1093.778 µg GAE/mL demostrando mayor concentración de polifenoles, a diferencia de lo reportado por Choque Lope *et al.* (2025) (78) quienes obtuvieron valores de 47.689 y 51.677 µg GAE/mL de compuestos fenólicos totales siendo muy bajos, esto se debe a los diferentes solventes que se utilizaron uno con etanol y agua y el otro etanol puro al 96% en extractos de *C. quinoa,* mientras que para la extracción de *C. pallidicaule* se utilizó etanol al 50 %, también se puede observar que en *C. quinoa* se encontraron ácidos fenólicos que se encuentran en los compuesto fenólicos, siendo más importante el ácido ferúlico, mientras en la extracción de *C. pallidicaule* tiene mayor liberación de metabolitos en el contenido de fenoles.

Se encontró saponinas totales en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis con un valor de 655.278 µg EAO/mL, en comparación a la reportado por Jeong Gyu Lim *et al.* (2020) (79) en *Chenopodium quinoa*, obtuvieron en la semilla el valor de 1.26 g/100 g, evidenciando que su contenido de saponinas es superior en comparación de *C. pallidicaule*, la diferencia se da en la forma de interpretar los datos reportados, ya que en este estudio utilizaron la base seca del material vegetal donde midieron el sólido, en cambio en *C. pallidicaule* la extracción hidroalcohólica se midió el líquido.

Los análisis revelaron mayor capacidad antioxidante por el método DPPH en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis con un valor de 1971.24 µmol TE/L, en comparación a lo reportado por Choque Lope *et al.* (2025) (78) donde obtuvieron los siguientes valores 0.939 µmol TE/L utilizando el solvente de etanol al 96% y 44.152 µmol TE/L utilizando el solvente etanol y agua en el *C. quinoa* conocida como quinua negra, la diferencia se debe a la metodología empleada donde utilizaron el método de ultrasonido para la extracción de *C. quino* considerando un proceso activo y para la extracción de *C. pallidicaule* el método de percolación considera un proceso pasivo, en otro estudios reportados por Roshani *et al.* (2024) (77) evaluaron el porcentaje de inhibición de radical DPPH que fue 47.7 % en *C. quinoa*, en comparación con *C. pallidicaule* que tiene un porcentaje de inhibición de 59.93 %, esto indica que el extracto *C. pallidicaule* tiene mayor capacidad para poder neutralizar radicales libres.

Se evaluó en el fraccionamiento del extracto hidroalcohólico de *C. pallidicaule* variedad Ramis las líneas celulares MCF-7 y MDA-MB-231 donde se evidenciaron que ambas líneas celulares no poseen actividad citotóxica a pesar de la presencia de saponinas totales ya que demostraron valores superiores al 75 % de viabilidad, es por ello que no se pudo determinar el IC_{50}, en comparación a su familia cercana *C. quino* que demostraron una actividad citotóxica ya que la viabilidad va disminuyendo con un porcentaje de 25.23 % hasta un 5.24 % es por ello que se pudo evaluar el IC_{50} que fue 4.5 µg/mL se puede decir que posee alta capacidad citotóxica en línea MCF-7 que fue evaluado por Espinoza silva *et al* (2024) (80), ambos utilizaron la saponinas para evaluar su actividad citotóxica.

7. CONCLUSIONES

- Se determinó que el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis es rico en metabolitos secundarios, donde se encontraron el contenido de taninos totales en 454.04 µg eq. AT/mL, flavonoides totales en 316.0 µg eq. Q/mL, compuestos fenólicos en 1093.78 µg eq. GA/mL y saponinas totales en 655.28 µg eq. AO/mL, con estos datos obtenidos se posicionó como un agente bioactivo.
- Se determinó la actividad antioxidante con el ensayo DPPH en el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis donde alcanzó un valor de 1971.24 µmol T/L y con porcentaje de inhibición de 59.93 %, ambos resultados evidencian su alta capacidad para neutralizar radicales libres presentes.
- Se evaluó el efecto citotóxico en líneas celulares de MCF-7 y MDA-MB-231 del fraccionamiento del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium pallidicaule* variedad Ramis, resultando sin efecto de actividad citotóxica debido a la viabilidad celular superior

al 75 %, sin evidencia de relación dosis - respuesta, por lo que no fue posible hallar el de IC_{50}, también se demostró que no posee efecto anticancerígeno bajo las condiciones experimentales evaluadas.

- En relación con los objetivos, se concluyó que sí posee capacidad antioxidante, pero no presentó efecto citotóxico en las líneas celulares del cáncer de mama MCF-7 y MDA-MB-231.

8. RECOMENDACIONES

- Realizar el aislamiento de las saponinas totales para saber qué tipo de sapogeninas están presentes en *Chenopodium pallidicaule.* Asimismo, determinar su actividad biológica.
- Evaluar estudios comparativos en productos de la misma especie, con el fin de identificar sus diferentes composiciones químicas y su posible similitud en la actividad biológica.
- Determinar la actividad del extracto, en diferentes fracciones y en diferentes líneas celulares, que nos permita una visualización más selectiva y completa, además de su comportamiento biológico.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ortiz-Sempértegui J, Ibieta G, Tullberg C, Peñarrieta JM, Linares-Pastén JA. Chemical Characterisation of New Oils Extracted from Cañihua and Tarwi Seeds with Different Organic Solvents. Foods. 2024 Jul 1;13(13). doi:10.3390/foods13131982 PubMed PMID: 38998488.
2. Mérida-López J, Pérez SJ, Morales R, Purhagen J, Bergenståhl B, Rojas CC. Comparison of the Chemical Composition of Six Canihua (Chenopodium pallidicaule) Cultivars Associated with Growth Habits and after Dehulling. Foods. 2023 Apr 1;12(8). doi:10.3390/foods12081734
3. Brandolini A, Glorio-Paulet P, Estivi L, Locatelli N, Cordova-Ramos JS, Hidalgo A. Tocopherols, carotenoids and phenolics changes during Andean lupin (Lupinus mutabilis Sweet) seeds processing. Journal of Food Composition and Analysis. 2022 Mar;106.
4. Cervantes-Valencia ME, López-Valdez N, Rojas-Lemus M, González-Villalva A, Morales-Ricardes G, Bizarro-Nevares P, et al. Antioxidantes naturales y su efecto contra el estrés oxidante provocado por la contaminación por material particulado. Revista de la Facultad de Medicina. 2024 Jul 10;67(4):7–20. doi:10.22201/fm.24484865e.2024.67.4.02
5. Muñoz Cendales DR, Cuca Suárez LE. Compuestos citotóxicos de origen vegetal y su relación con proteínas inhibidoras de apoptosis (IAP). Revista Colombiana de Cancerología. 2016 Jul;20(3):124–34. doi:10.1016/j.rccan.2015.10.002
6. Ma L, Zhang M, Zhao R, Wang D, Ma Y, Ai L. Plant natural products: Promising resources for cancer chemoprevention. Molecules. MDPI AG; 2021. doi:10.3390/molecules26040933 PubMed PMID: 33578780.
7. ORAS-CONHU. Situación del cáncer en la región andina [Internet]. Lima; 2022 Feb [cited 2025 Aug 1]. Available from: https://www.orasconhu.org/sites/default/files/file/webfiles/doc/SITUACION%20DEL%20CANCER_v1.pdf
8. Repo De Carrasco R, Rene C, Zelada E. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: Quinua (Chenopodium quinoa), Kañiwa (Chenopodium pallidicaule) y Kiwicha (Amaranthus caudatus). Revista de la Sociedad Química del Perú. 2008;74(2):85–99.

9. Huanca Quiroz EU. Huella hídrica del cultivo de Kañiwa (Chenopodium pallidicaule Aellen) en las cuencas Coata e Illpa, Puno [Tesis doctoral]. [Puno]: Universidad Nacional del Altiplano; 2021.
10. Huamán Tapara JC, Flores Huarco NH, Valverde Rodríguez A, Jara Claudio FR. Rendimiento de diez variedades de Cañihua (Chenopodium pallidicaule Allen) en Chumbivilcas, Cusco-Perú. Revista Alfa. 2024 Sep 20;8(24):930–8. doi:10.33996/revistaalfa.v8i24.314
11. Moscoso-Mujica G, Mujica Á, Chura E, Begazo N, Jayo-Silva K, Oliva M. Kañihua (Chenopodium pallidicaule Aellen), an ancestral Inca seed and optimal functional food and nutraceutical for the industry: Review. Heliyon. Elsevier Ltd; 2024. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e34589
12. Bartolo E, Dolly E. Propiedades nutricionales y antioxidantes de la cañihua (Chenopodium pallidicaule Aellen). Vol. 2. 2013;2(1):47–53.
13. Callohuanca Pariapaza MA, Mamani Mamani E, Quispe Romero AF, Yucra Sotomayor M. Cañihua Chenopodium pallidicaule Aellen) alimento funcional. In: Cañihua Chenopodium pallidicaule Aellen) alimento funcional [Internet]. 1st ed. Puno: Universidad Nacional del Altiplano; 2019 [cited 2026 Feb 6]. p. 1. Available from: https://isbn.bnp.gob.pe/catalogo.php?mode=detalle&nt=108539
14. Rastrelli L, Saturnino P, Schettino O, Dini A. Studies on the Constituents of Chenopodium pallidicaule (Canihua) Seeds. Isolation and Characterization of Two New Flavonol Glycosides. J Agric Food Chem. 1995 Aug 1;43(8):2020–4. doi:10.1021/jf00056a012
15. Repo-Carrasco-Valencia R, Hellström JK, Pihlava JM, Mattila PH. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (Chenopodium quinoa), kañiwa (Chenopodium pallidicaule) and kiwicha (Amaranthus caudatus). Food Chem. 2010 May;120(1):128–33. doi:10.1016/j.foodchem.2009.09.087
16. Huamán-Tapara JC. Producción de cañihua (Chenopodium pallidicaule Aellen) en el Perú: un cultivo alternativo para el futuro. Agronomía Costarricense. 2025 Nov 20. doi:10.15517/rja5zq95
17. Rojas W, Soto JL, Pinto M, Jäger M, Padulosi S. Granos andinos: avances, logros y experiencias desarrolladas en quinua, cañahua y amaranto en Bolivia. Primera edición. Rojas W, Soto JL, Pinto M, Jäger M, Padulosi S, editors. Rome: Bioversity International; 2010. 178 p.

18. Cuba Puma R. Evaluación de la capacidad antioxidante del maíz (Zea mays L.) tipo cabanita, de la región Arequipa [Maestría Tesis]. [Arequipa]: Universidad Católica Santa MarÍa; 2023.
19. Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciência e Tecnologia de Alimentos [Internet]. 2005 Oct;25(4):726–32. Available from: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=395940076016
20. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. Arch Toxicol. 2020 Mar 16;94(3):651–715. doi:10.1007/s00204-020-02689-3 PubMed PMID: 32180036.
21. Kotha RR, Tareq FS, Yildiz E, Luthria DL. Oxidative Stress and Antioxidants—A Critical Review on In Vitro Antioxidant Assays. Antioxidants. 2022 Dec 1;11(12):2388–2388. doi:10.3390/antiox11122388
22. Alanoca Coaquira SM. Evaluación del contenido de ácido ascórbico y polifenoles totales del sancayo (Corryocactus brevistylus) y determinación de su actividad antioxidante y genotoxicidad en linfocitos de sangre periférica [Tesis de pregrado]. [Arequipa]: Universidad Catolica de Santa María; 2014.
23. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. Oxid Med Cell Longev. 2017 Jul 27;2017:8416763–8416763. doi:10.1155/2017/8416763 PubMed PMID: 28819546.
24. Dong R, Wang J, Guan R, Sun J, Jin P, Shen J. Role of Oxidative Stress in the Occurrence, Development, and Treatment of Breast Cancer. Oliver J, editor. Antioxidants. 2025 Jan 17;14(1):104–104. doi:10.3390/antiox14010104
25. Serena-Romero G, Ignot-Gutiérrez A, Conde-Rivas O, Lima-Silva MY, Martínez AJ, Guajardo-Flores D, et al. Impact of In Vitro Digestion on the Digestibility, Amino Acid Release, and Antioxidant Activity of Amaranth (Amaranthus cruentus L.) and Cañihua (Chenopodium pallidicaule Aellen) Proteins in Caco-2 and HepG2 Cells. Antioxidants. 2023 Dec 5;12(12):2075–2075. doi:10.3390/antiox12122075
26. Zúñiga Moreno LE, Tapia Alvarado DT, Chilán Carrasco DV, Arellano Arcentales AM, Decker Campuzano FE, Sánchez Castro EE. Análisis de la capacidad antioxidante mediante el método DPPH de una bebida de pepino dulce (Solanum muricatum Aiton) y durazno (Prunus persica L. Batsch). Revista Científica Multidisciplinaria. 2025 Jan 6;6(14):122–34. doi:10.56519/7pejyy46

27. Marković Z. Study of the mechanisms of antioxidative action of different antioxidants. Journal of the Serbian Society for Computational Mechanics / Special Edition. 2016;10(1):135–50.
28. Hidalgo Castro DA, Nuñez Molares SM. Determinación de la estabilidad oxidativa y capacidad antioxidante del aceite de semilla de Cucurbita máxima y Cucurbita ficifolia [Tesis de pregrado]. [Nuevo Chimbote]: Universidad Nacional del Santa; 2021.
29. Chávez Sumarriva NL. Capacidad antioxidante, polifenoles y efecto citotóxico en líneas celulares del extracto hidroalcohólico de Handroanthus obscurus (Bureau & K. Schum.) Mattos "tahuari negro" [Maestría Tesis]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2019.
30. Xiong X, Zheng LW, Ding Y, Chen YF, Cai YW, Wang LP, et al. Breast cancer: pathogenesis and treatments. Signal Transduct Target Ther. 2025 Dec 2;10(19):1–33. doi:10.1038/s41392-024-02108-4 PubMed PMID: 39966355.
31. Dvir K, Giordano S, Leone JP. Immunotherapy in Breast Cancer. Int J Mol Sci. 2024 Jul 9;25(14):7517–7517. doi:10.3390/ijms25147517 PubMed PMID: 39062758.
32. Santaballa Bertrán A, Sepúlveda NG. Epidemiología del cáncer de mama. Revisiones en Cancer. 2022;36(4):178–84.
33. Łukasiewicz S, Czeczelewski M, Forma A, Baj J, Sitarz R, Stanisławek A. Breast Cancer—Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies— AnUpdated Review. Cancers (Basel). 2021 Sep 1;13(17). doi:10.3390/cancers13174287 PubMed PMID: 34503097.
34. Wendy Karolay VC. Conocimientos sobre cáncer de mama y medidas preventivas en pacientes del control de bienestar auna,Lima, 2023. Universidad Nacional Federico Villarreal; 2024.
35. Fernández JÁ, Ozores PP, López VC, Mosquera AC, López RL. Cáncer de mama. Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado. 2021 Mar;13(27):1506–17. doi:10.1016/j.med.2021.03.002
36. Isaac C, Santana C, Ariel M, Solórzano L, Loor Sánchez CJ, Melissa A, et al. Cáncer de Mama: prevalencia, factores de riesgo y signos en la población [Internet]. Available from: https://orcid.org/0000-0002-2832-8759
37. Pablo Celestino OR. Cáncer de mama: carcterísticas epidemiológicas e inmuno-histoquímicas en pacientes atendidas en el hospital nacional carlos alberto seguin escobedo essalud arequipa 2000-2007 [Tesis de pregrado]. [Arequipa]: Universidad Católica de Santa Maria; 2018.

38. Palmero Picazo J, Lassard Rosenthal J, Juárez Aguilar LA, Medina Núñez CA. Cáncer de mama: una visión general. Acta Médica Grupo Ángeles. 2021;19(3):354–60. doi:10.35366/101727
39. Arps DP, Healy P, Zhao L, Kleer CG, Pang JC. Invasive ductal carcinoma with lobular features: a comparison study to invasive ductal and invasive lobular carcinomas of the breast. Breast Cancer Res Treat. 2013 Apr 28;138(3):719–26. doi:10.1007/s10549-013-2493-2
40. Giuliano AE, Connolly JL, Edge SB, Mittendorf EA, Rugo HS, Solin LJ, et al. Breast Cancer—Major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. CA Cancer J Clin. 2017 Jul 8;67(4):290–303. doi:10.3322/caac.21393
41. Johnson KS, Conant EF, Soo MS. Molecular Subtypes of Breast Cancer: A Review for Breast Radiologists. J Breast Imaging. 2021 Jan 26;3(1):12–24. doi:10.1093/jbi/wbaa110
42. Mumtaz S, Ali S, Mumtaz S, Pervaiz A, Tahir HM, Farooq MA, et al. Advanced treatment strategies in breast cancer: A comprehensive mechanistic review. Sci Prog. 2023 Apr 25;106(2). doi:10.1177/00368504231175331
43. Samad MA, Ahmad I, Khan MR, Suhail M, Zughaibi TA, Al-Abbasi FA, et al. Breast Cancer: Molecular Pathogenesis and Targeted Therapy. MedComm (Beijing). 2025 Oct 4;6(10). doi:10.1002/mco2.70404
44. Martin HL, Smith L, Tomlinson DC. Multidrug-resistant breast cancer: Current perspectives. Breast Cancer: Targets and Therapy. 2014. p. 1–13. doi:10.2147/BCTT.S37638
45. Geng W, Thomas H, Chen Z, Yan Z, Zhang P, Zhang M, et al. Mechanisms of acquired resistance to HER2-Positive breast cancer therapies induced by HER3: A comprehensive review. European Journal of Pharmacology. Elsevier B.V.; 2024. doi:10.1016/j.ejphar.2024.176725 PubMed PMID: 38851563.
46. Tufail M, Cui J, Wu C. Breast cancer: molecular mechanisms of underlying resistance and therapeutic approaches. Am J Cancer Res [Internet]. 2022. Available from: www.ajcr.us/
47. Castaño O. ME, Zapata J. JC. Cultivos celulares. In: Ossa Londoño J, editor. Principios de Virología. 3rd ed. Fondo Editorial Biogénesis; 2016. p. 51–2.
48. Morales-Sánchez J, Ulloa-Fernández A, Castro-Piedra S, Centeno-Cerdas C, Calvo-Castro LA. Cultivo Celular e Ingeniería de Tejidos: Aplicaciones en Biomedicina.

Revista Tecnología en Marcha. 2019 Sep 9;32(Especial (25 Aniversario del Centro de Investigación en Biotecnología)):56–65. doi:10.18845/tm.v32i9.4628

49. Mendigure Fernandez AM. "Efecto del 1-(3'-(1-(2-(4-morfolinil)etil)1H-pirazol-3-il)-3-bifenilil) etanona — antagonista LRH-1 — sobre células adenocarcinomas ascitis metastásicas pancreáticas humanas (ASPC-1)" [Tesis de pregrado] [Internet]. [Arequipa]: Universidad Católica de Santa María; 2016 [cited 2026 Feb 5]. Available from: https://repositorio.ucsm.edu.pe/server/api/core/bitstreams/ce68c58b-fe35-4039-8056-00317b07e2ee/content
50. Condori Barrenechea B del C. Determinación del efecto citotóxico del extracto de hojas de Annona muricata L. (Guanábana) en cultivo de líneas celulares de cáncer de próstata (PC-3) y cáncer de páncreas (ASPC-1) [Tesis de pregrado] [Internet]. [Arequipa]: Universidad Católica de Santa María; 2017 [cited 2026 Feb 5]. Available from: https://repositorio.ucsm.edu.pe/server/api/core/bitstreams/c8be03f2-b30f-44ff-987a-7e9134f72368/content
51. Johnson Corrales F. Estudio de la citotoxicidad del ácido cafeico, el 1.8- Cineol y la Triptantrina en las líneas celulares de cáncer de mama MCF7 y MDA-MB-231 [Maestría Tesis]. [Arequipa]: Universidad Católica de Santa María; 2023.
52. Cytion GmbH. Ficha técnica de la línea celular MCF-7 [Internet]. 2025 [cited 2026 Feb 5]. p. 1–6. Células MCF-7. Available from: https://www.cytion.com/es/Celulas-MCF-7/300273
53. López-Naranjo F, Ávila-Álvarez EP, Guadarrama-Flores B, Córdova-Moreno R, Hernández-Rodríguez NA. Estudio de las células cancerosas y su activación celular en el cáncer de mama. Revista de Educación Bioquímica [Internet]. 2018 Apr 11 [cited 2026 Feb 6];37(5):100–10. Available from: https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2018/reb184b.pdf
54. Cytion GmbH. Ficha técnica de la línea celular MDA-MB-231. 2025. Células MDA-MB-231.
55. Carpio Paucar GN, Palo Cárdenas AI. Evaluación de la actividad citotoxica de saponinas y sapogenias provenientes de residuos de Chenopodium quinoa willd. sobre Lineas celulares SH-Sy5H, Hela A549 y HepG2 [Maestría Tesis]. [Arequipa]: Universidad Católica de Santa Maria; 2020.
56. Colombo P, Gunnarsson K, Iatropoulos M, Brughera M. Toxicological testing of cytotoxic drugs (review). Int J Oncol. 2001 Nov 1;19(5):1021–8. doi:10.3892/ijo.19.5.1021 PubMed PMID: 11605004.

57. Dougall IG, Unitt J. Evaluation of the Biological Activity of Compounds: Techniques and Mechanism of Action Studies. In: Wermuth CG, Aldous D, Raboisson P, Rognan D, editors. The Practice of Medicinal Chemistry. Fourth Edition. Amsterdam: Elsevier Inc.; 2015. p. 15–43. doi:10.1016/B978-0-12-417205-0.00002-X
58. Aminuddin Mohd Shafiee M, Muhamad Asri MA, Syed Alwi SS. Review on the In Vitro Cytotoxicity Assessment in Accordance to the International Organization for Standardization (ISO). Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences. 2021 Apr;17(2):261–9.
59. Chaudhry G, Zeenia, Safdar N, Begum S, Akim AM, Sung YY, et al. Cytotoxicity assays for cancer drug screening: methodological insights and considerations for reliable assessment in drug discovery. Brazilian Journal of Biology. 2024;84:e284409. doi:10.1590/1519-6984.284409 PubMed PMID: 39699393.
60. Martínez-Torres AC, Uscanga-Palomeque AC, Rodríguez-Padilla C. Actividad citotóxica in vitro frente a células tumorales. In: Rivas Morales C, Oranday-Cárdenas MA, Verde-Star MJ, editors. Investigación en plantas de importancia médica. Barcelona: OmniaScience; 2016. p. 269–312. doi:10.3926/oms.318
61. Ghasemi M, Turnbull T, Sebastian S, Kempson I. The mtt assay: Utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis. Int J Mol Sci. 2021 Nov 26;22(23):12827–12827. doi:10.3390/ijms222312827 PubMed PMID: 34884632.
62. Pacheco KC, Espejo GZ, Saldaña Jiménez J, Cerdán WB. Efecto del extracto hidroalcohólico de Caesalpinia spinosa (Fabaceae) sobre el crecimiento de Salmonella typhi y Escherichia coli Effect of hydroalcoholic extract of Caesalpinia spinosa (Fabaceae) on the growth of Salmonella typhi and Escherichia coli. Arnaldoa. 2019;26(2):699–712. doi:10.22497/arnaldoa.262.26212
63. Herald TJ, Gadgil P, Perumal R, Bean SR, Wilson JD. High-throughput micro-plate HCl-vanillin assay for screening tannin content in sorghum grain. J Sci Food Agric. 2014;94(10):2133–6. doi:10.1002/jsfa.6538 PubMed PMID: 24343522.
64. Nagy R, Kun-Nemes A, Szőllősi E, Bíróné Molnár P, Cziáky Z, Murányi E, et al. Physiological potential of different Sorghum bicolor varieties depending on their bioactive characteristics and antioxidant potential as well as different extraction methods. Heliyon. 2024 Aug 30;10(16). doi:10.1016/j.heliyon.2024.e35807
65. Novia Sembiring E, Rani Sauriasari BE. Phytochemical Screening, Total Flavonoid and Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Different Parts of Caesalpinia

bonduc (L.) Roxb. Pharmacognosy Reviews. 2018. p. 123–7. doi:10.4103/0973-7847.70902 PubMed PMID: 22228951.

66. Shi L, Zhao W, Yang Z, Subbiah V, Suleria HAR. Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. Environmental Science and Pollution Research. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2022. p. 81112–29. doi:10.1007/s11356-022-23337-6 PubMed PMID: 36201076.
67. Bobo-García G, Davidov-Pardo G, Arroqui C, Vírseda P, Marín-Arroyo MR, Navarro M. Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. J Sci Food Agric. 2015 Jan 1;95(1):204–9. doi:10.1002/jsfa.6706 PubMed PMID: 24756821.
68. Ghadigaonkar S, Reddy AG, Kalakumar B, Lakshman M, Rajkumar U. Quantification of total phenolic content, total flavonoid content and evaluation of in vitro free radical scavenging activities in Ficus religiosa Linn. The Pharma Innovation Journal [Internet]. 2021;10(3):84. Available from: http://www.thepharmajournal.com
69. V. Le A, E. Parks S, H. Nguyen M, D. Roach P. Improving the Vanillin-Sulphuric Acid Method for Quantifying Total Saponins. Technologies (Basel). 2018 Sep 1;6(3). doi:10.3390/technologies6030084
70. Achhami H, Pachhai BB, Chaudhary S, Manandhar P, Bhatt LR. Physicochemical, nutritional, antinutritional and antioxidant properties of juice and wines from Rhododendron arboreum Sm. petals. Applied Food Research. 2025 Jun 1;5(1). doi:10.1016/j.afres.2025.100929
71. Aronés Jara MR, Cárdenas Landeo E, Luna Molero HR, Barbarán Vilcatoma SM, Gómez Quispe M. Tamizaje fitoquímico, contenido de compuestos fenólicos y potencial antioxidante de trece plantas medicinales de los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca, en Perú. Revista de la Sociedad Química del Perú. 2022 Aug 30;88(2). doi:10.37761/rsqp.v88i2.388
72. Quesada Morúa MS. Determinación de la actividad antioxidante y el efecto citotóxico sobre líneas celulares tumorales de un extracto rico en polifenoles del fruto Bactris guineensis [Maestría Tesis]. [Costa Rica]: Universidad de Costa Rica ; 2020.
73. Nordin ML, Abdul Kadir A, Zakaria ZA, Abdullah R, Abdullah MNH. In vitro investigation of cytotoxic and antioxidative activities of Ardisia crispa against breast cancer cell lines, MCF-7 and MDA-MB-231. BMC Complement Altern Med. 2018 Mar 12;18(1). doi:10.1186/s12906-018-2153-5 PubMed PMID: 29530022.

74. Abdul-Razek N, Khalil RG, Abdel-Latif M, Kamel MM, Alhazza IM, Awad EM, et al. Investigating the Tumor-Suppressive, Antioxidant Effects and Molecular Binding Affinity of Quercetin-Loaded Selenium Nanoparticles in Breast Cancer Cells. Bionanoscience. 2025 Mar 1;15(1). doi:10.1007/s12668-024-01767-5

75. Garro LA, Cardona DW, Benjamín D, Sara D, Robledo M, Fernando D, et al. Actividad antioxidante y citotóxica de extractos de Pilea dauciodora Wedd (Urticaceae) Antioxidant and cytotoxic activity of extracts of Pilea dauciodora Wedd (Urticaceae). Revista Cubana de Plantas Medicinales [Internet]. 2015. Available from: http://scielo.sld.cu

76. Zhou X, Yue T, Wei Z, Yang L, Zhang L, Wu B. Evaluation of nutritional value, bioactivity and mineral content of quinoa bran in China and its potential use in the food industry. Curr Res Food Sci. 2023;7:100562. doi:10.1016/j.crfs.2023.100562

77. Roshani K, Emtyazjoo M, Rabbani M, Shakouri MJ, Movahhed S. Ultrasound-assisted extraction of quinoa seed malt extract for the determination of nutritional content, antioxidant, and anticancer activity against HT-29 colorectal cancer cell lines. Journal of Food Measurement and Characterization. 2024 May 1;18(5):3950–9. doi:10.1007/s11694-024-02467-0

78. Choque Lope SR, Cuty Ticona GP, Mamani Arosquipa GF, Durand Portugal KE, Concha Escobedo PA, Gonzales-Condori E, et al. Influence of solvents in obtaining black quinoa extracts: antioxidant capacity and potential use in the synthesis of nanoparticles. In: Proceedings of the LACCEI international Multi-conference for Engineering, Education and Technology. Latin American and Caribbean Consortium of Engineering Institutions; 2025. doi:10.18687/LACCEI2025.1.1.1674

79. Lim JG, Park HM, Yoon KS. Analysis of saponin composition and comparison of the antioxidant activity of various parts of the quinoa plant (Chenopodium quinoa Willd.). Food Sci Nutr. 2020 Jan 1;8(1):694–702. doi:10.1002/fsn3.1358

80. Espinoza Silva C, De la Cruz J, Mamani W, Flores Ramos O, Rojas Zacarias E, Hinostroza Quiñonez G. Cytotoxicity of saponin nanoparticles from quinoa (Chenopodium quinoa willd.) in the MC-F7 cell line. Acta Sci Pol Technol Aliment. 2024;23(3):337–44. doi:10.17306/J.AFS.001236

10. ANEXOS

Anexo 1. Constancia de determinación de *Chenopodium pallidicaule* (cañihua)

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA

CONSTANCIA N° 11-2026-HUSA

El director del *Herbarium Areqvipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que la muestra biológica presentada por Rocio Sandra Mendoza Miranda y Rosa Elvira Dávila Ortiz, egresadas de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímica y Biotecnológicas, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Santa María, para la realización de su tesis "Análisis de la capacidad antioxidante y efecto citotóxico del extracto de *Chenopodium pallidacaule* (Cañihua) en líneas celulares de Cáncer de mama, Arequipa 2025". La muestra fue traída del Distrito de Puno, Provincia de Puno, Región Puno, al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el Herbarium Areqvipense (HUSA) y corresponde a la siguiente especie.

Division	**Magnoliophyta**
Clase	**Magnoliopsida**
Subclase	**Rosidae**
Orden	**Caryophyllales**
Familia	**Amaranthaceae**
Subfamilia	**Chenoponoideae**
Genero	**Chenopodium**
Especie	***Chenopodium pallidacaule Aellen.***
	Var. Ramis

Se le expide la presente a solicitud del interesado

Arequipa, 11 de marzo del 2026

Firma
Mg. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR
Herbarium Areqvipense (HUSA)

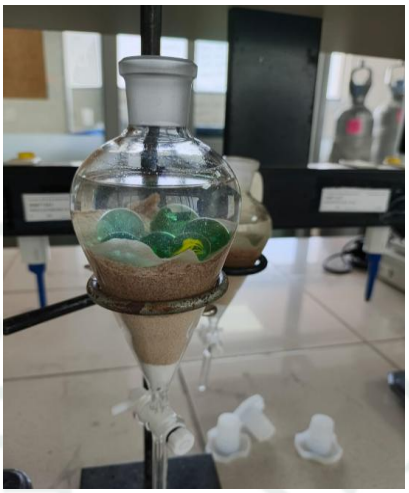
Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado-Teléfono: (054) 237755 / 993659045

Anexo 2. Evidencias Fotográficas

Molino inox



Maceración y percolación



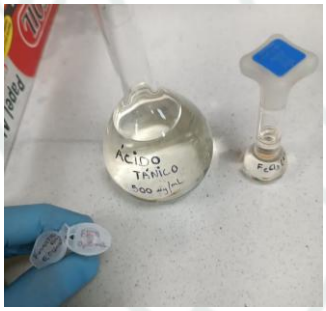
Rotavapor



Extracción Hidroalcohólica



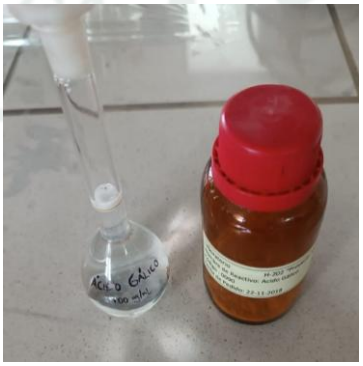
Reactivos para la evaluación de metabolitos







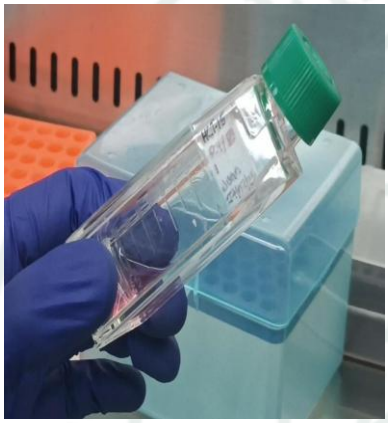




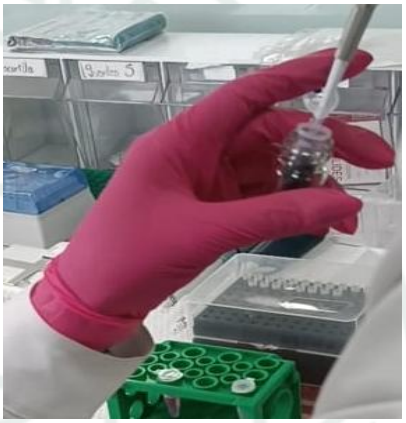
Reactivo de DPPH



Cultivo Celular de Cancer de Mama

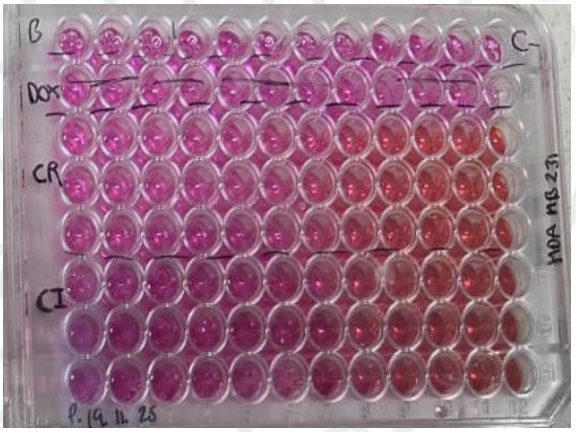


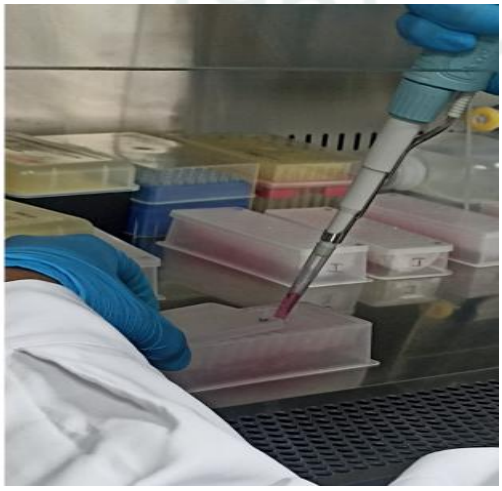




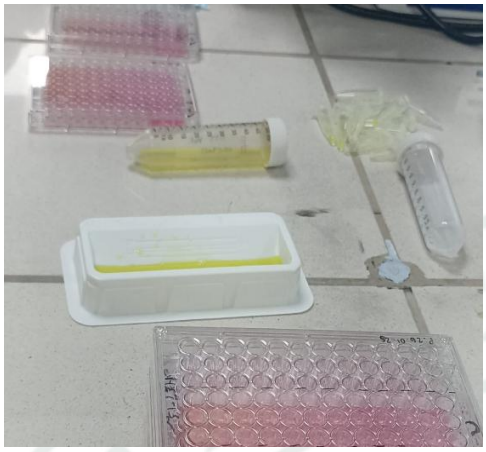
Tratamiento en las líneas celulares MCF-7 - MDA-MB-231







Prueba de viabilidad MTT





Reactivo de DMSO en las líneas celulares MCF-7 - MDA-MB-231



