

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS:

**Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante
in vitro de frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. de Ayacucho**

Para optar el título profesional de:
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:
Bach. Uriel HUARCAYA QUISPE

ASESOR:
Dr. Marco Rolando ARONES JARA

AYACUCHO - PERÚ

2024

Dedico esta investigación a mis padres, quienes con su amor incondicional y sabios consejos han sido mi mayor fuente de fortaleza y guía en cada paso de mi vida. A mi hija, por ser mi inspiración diaria, recordándome siempre la importancia de perseverar y alcanzar cada meta con determinación. A ellos, todo mi esfuerzo y gratitud.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por brindarme la oportunidad de realizar esta investigación y por todo el apoyo institucional a lo largo de mi formación académica.

Expreso también mi sincero agradecimiento a la plana docente de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, quienes con su compromiso y dedicación han contribuido significativamente a mi desarrollo profesional y personal.

Finalmente, extendiendo mi especial gratitud a mi asesor, el Dr. Marco Aronés Jara, por su guía experta, paciencia y valiosas enseñanzas durante todo el proceso de esta investigación. Su apoyo ha sido fundamental para la culminación de este trabajo.

ÍNDICE

ÍNDICE	VII
ÍNDICE DE TABLAS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE ANEXOS	XIII
RESUMEN	XV
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes	5
2.2. Redacción del marco teórico	8
2.3. Marco conceptual	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. Ubicación	19
3.2. Definición de la población y muestra	19
3.2.1. Población	19
3.2.2. Muestra	19
3.3. Procedimiento para la recolección de datos	19
3.3.1. Recolección e identificación del material vegetal	19
3.3.2. Obtención del extracto	20
3.3.3. Tamizaje fitoquímico	20
3.3.4. Cuantificación de flavonoides totales	24
3.3.5. Evaluación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH	24
3.4. Alcance de investigación	25
3.4. Hipótesis	25
3.5. Diseño de investigación	25
3.6. Análisis de datos	25
IV. RESULTADOS	27
V. DISCUSIÓN	33
VI. CONCLUSIONES	37
VII. RECOMENDACIONES	39
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
IX. ANEXOS	45

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en los frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	29
Tabla 2. Contenido de compuestos fenólicos de los frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	30

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	9
Figura 2. Estructura básica de los lignanos	15
Figura 3. Estructura de la Balafonina	17
Figura 4. Estructura del Traquelósido	18
Figura 5. Estructura de la Butirolactona	18
Figura 6. Actividad antioxidante <i>in vitro</i> mediante el método DPPH de los frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	31
Figura 7. Concentración eficiente antioxidante <i>in vitro</i> mediante el método DPPH de los frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	32

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Identificación taxonómica de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	47
Anexo 2. Identificación de metabolitos de los frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	48
Anexo 3. Identificación de metabolitos presentes en el extracto etéreo de los frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	49
Anexo 4. Identificación de metabolitos presentes en el extracto etanólico de los frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	50
Anexo 5. Identificación de metabolitos presentes en el extracto acuoso de los frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	51
Anexo 6. Datos estadísticos de la actividad antioxidante <i>in vitro</i> de los frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	52
Anexo 7. Matriz de consistencia	54

RESUMEN

Cirsium vulgare (Savi) Ten., es una planta de la familia Asteraceae, reconocida por su composición rica en metabolitos secundarios y su uso en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas afecciones. En este contexto, el objetivo del estudio fue determinar el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante *in vitro* de los frutos de *Cirsium vulgare* de Ayacucho. Se realizó un tamizaje fitoquímico cualitativo para identificar metabolitos. Se determinó el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y el contenido de flavonoides por el método del tricloruro de aluminio, que fueron expresados como equivalentes de ácido gálico (mgGAE/g) y rutina (mgRUE/g) por gramo de extracto, respectivamente. Y la actividad antioxidante se evaluó mediante el método de DPPH. El tamizaje fitoquímico confirmó la presencia de compuestos grasos, alcaloides, lactonas, catequinas, saponinas, fenoles y/o taninos, quinonas, flavonoides, mucílagos y principios amargos. El contenido de fenoles totales fue de $86,6 \pm 0,05$ mg GAE/g de extracto seco, y el contenido de flavonoides fue de $32,4 \pm 1,91$ mg RUE/g. La actividad antioxidante medida por DPPH mostró una inhibición del 25,33% a una concentración de 250 $\mu\text{g/mL}$, con una concentración eficiente antioxidante (CE50) de $657,22 \pm 11,12$ $\mu\text{g/mL}$, en comparación con Trolox, que mostró un CE50 de $38,09 \pm 0,05$ $\mu\text{g/mL}$. En conclusión, los frutos de *Cirsium vulgare* contienen una variedad de compuestos fenólicos, tales como taninos y flavonoides, que contribuyen a su moderada actividad antioxidante que, aunque inferior al Trolox, sugiere un potencial uso en aplicaciones terapéuticas y nutraceuticas.

Palabras clave. Polifenoles, concentración eficiente antioxidante, tamizaje fitoquímico, método antioxidante *in vitro*.

I. INTRODUCCIÓN

Los polifenoles representan un extenso grupo de compuestos naturales con un amplio rango de actividad biológica, y muchos de ellos se han identificado en plantas. Las Asteraceae constituyen una de las familias más numerosas de plantas con flores, abarcando más de 13,000 especies distribuidas en 1,310 géneros a nivel mundial. Varias especies de esta familia se investigan por su potencial actividad antioxidante.^{1,2}

Cirsium vulgare (Savi) Ten., perteneciente a la familia Asteraceae, una de las más numerosas en el reino vegetal, es una especie comúnmente utilizada en la medicina tradicional de varios países. Se le atribuyen propiedades diuréticas, astringentes, antiinflamatorias y ansiolíticas, lo que la hace valiosa en el tratamiento de diversas afecciones.³⁻⁶ Aunque es conocida también como una maleza problemática, tanto sus raíces como sus tallos son comestibles. Investigaciones previas han identificado en *C. vulgare* la presencia de compuestos como flavonoides, esteroides, aldehídos alifáticos y ácidos fenólicos.⁶ Estudios recientes han revelado que los extractos de esta y otras especies del género *Cirsium* exhiben potencial antioxidante y antibacteriano.⁷

Los antioxidantes, tanto exógenos como especialmente los endógenos, son compuestos esenciales que defienden al organismo contra los daños significativos ocasionados por los radicales libres. Estudios han evidenciado que las propiedades antioxidantes presentes en los productos naturales de origen vegetal pueden ofrecer una protección eficaz al prevenir el daño oxidativo en el ADN.⁷

Cirsium vulgare es una especie silvestre que crece en la región altoandina del Perú, en el distrito de Vinchos de la región de Ayacucho. Tiene una alta densidad población y crece al borde de las carreteras y en terrenos eriazos. El gran parecido de esta especie con *Silybum marianum*, generó interés por investigar esta especie que se ha podido encontrar en diferentes lugares de la región.

Diversos estudios han evidenciado que los flavonoides son los principales constituyentes de *C. arvense*, *C. oleraceum*, *C. palustre*, *C. rivulare*, *C. vulgare*; así como los ácidos fenólicos;³ además de contener taninos, esteroides, triterpenos y también ácidos fenólicos.⁸ En las hojas de *Cirsium* se ha identificado flavonoides, esteroides y triterpenos, alcaloides, poliacetilenos, acetilenos e hidrocarburos, lactonas sesquiterpénicas, ácidos fenólicos, lignanos y algunos otros compuestos.⁹ En las se ha encontrado flavonoides y los ácidos fenólicos;⁶ además de ácidos grasos y diversos flavonoides y ácidos fenólicos.¹⁰ Los frutos de aquenio de *Cirsium vulgare* son fuentes abundantes de lignanos de tipo butirolactona: los pares glucósido/aglicona de traquelósido/traquelogenina. Además contiene flavonoides, esteroides, aldehídos alifáticos y ácidos fenólicos.⁴

De la revisión de la literatura a nivel de artículos originales, sólo se ha evidenciado un estudio de los flavolignanos de los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. Las investigaciones se realizaron a nivel de las hojas, las inflorescencias e inclusive de la planta entera. Algunos artículos no precisan la droga vegetal estudiada y están orientadas básicamente a evaluar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antimicrobiana y antimicótica.

Junto con el creciente interés en los antimicrobianos y antioxidantes naturales derivados de las plantas, debido a su uso y beneficio en la conservación de alimentos y aditivos alimentarios naturales, en este estudio nuestro objetivo fue determinar el contenido fenólico total, las actividades antioxidantes y antimicrobianas de *C. vulgare*.⁷

De la indagación etnobotánica, no se ha evidenciado referencias escritas ni orales respecto al uso medicinal de esta especie, algunos pobladores hicieron referencia que de un momento a otro apareció esta planta, ya que no había antes.

¿Cuál será el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante *in vitro* del fruto de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten? de Ayacucho?

Por tales consideraciones, esta investigación está orientada a evaluar el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante *in vitro* del fruto de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. que crece en la región de Ayacucho.

Objetivo general

Determinar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante *in vitro* de frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. de Ayacucho.

Objetivos específicos

- a. Identificar los metabolitos secundarios presente en los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.
- b. Cuantificar el contenido de fenoles totales y flavonoides en los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.
- c. Evaluar el potencial antioxidante *in vitro* por el método de DPPH de los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

De la revisión de la literatura a nivel de artículos originales, sólo se ha evidenciado un estudio de los flavoliganos de los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. Las investigaciones se realizaron a nivel de las hojas, las inflorescencias e inclusive de la planta entera. Algunos artículos no precisan la droga vegetal estudiada y están orientadas básicamente a evaluar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antimicrobiana y antimicótica. A continuación, se describe el marco referencial de las investigaciones realizadas a partir del 2010. Asimismo, cabe resaltar que no se ha reportado estudios a nivel nacional sobre *C. vulgare*.

En 2008, **Nazaruk et al.**,¹⁰ publicaron el estudio que tuvo como objetivo identificar los compuestos polifenólicos y evaluar la actividad antimicrobiana y antioxidante de extractos acuosos de hojas de *Cirsium arvense*, *C. oleraceum*, *C. palustre*, *C. rivulare* y *C. vulgare*. Usando el método Folin-Ciocalteu, el contenido fenólico total varió entre 54 y 96 mg de ácido gálico por gramo de extracto seco, y los taninos oscilaron entre 1 y 7,63%. Los ácidos fenólicos se identificaron mediante HPLC. La actividad antioxidante ABTS mostró valores entre 2,31 y 2,78 mM/L. *Cirsium palustre* fue el más eficaz antimicrobianamente, influenciado por compuestos fenólicos de bajo peso molecular más que por los taninos.

Boldizsár et al., en 2012, reportaron el estudio que tuvo como objetivo identificar y cuantificar los lignanos del fruto de *Cirsium vulgare*. Utilizaron un sistema avanzado de análisis, que incluyó procesos de germinación, hidrólisis enzimática y técnicas cromatográficas (GC-MS, LC-MS/MS, LC-TOF/MS), confirmadas por espectroscopía RMN. Identificaron los lignanos principales: balanofonina, concentrada en la pared del fruto (23,2–24,9 mg/g), y traquelósido en la parte embrionaria (20,3 mg/g). Los métodos permitieron la extracción sin impurezas, siendo este el primer reporte en cuantificar balanofonina libre sin un estándar

auténtico. Se concluyó que las diferentes estructuras lignánicas pueden obtenerse eficientemente según su ubicación en el fruto.

En la publicación del 2013, **Kozyra et al.**,⁸ analizaron los ácidos fenólicos presentes en el extracto metanólico de las hierbas en flor de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten., que crecen en Polonia. Las muestras, que incluían ácidos fenólicos libres y aquellos liberados tras hidrólisis ácida y alcalina, fueron examinadas mediante cromatografía en capa fina bidimensional (TLC 2D) en celulosa. Posteriormente, las muestras purificadas mediante extracción en fase sólida (SPE) se analizaron usando cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC). En la fracción de ácidos fenólicos libres del extracto metanólico se identificaron seis ácidos fenólicos: gálico, protocatecúico, gentísico, hidrobenczoico, vainílico y cafeico, independientemente del método empleado.

En una comunicación corta, el 2014, **Kozyra et al.**,¹¹ reportaron los resultados del estudio cualitativo y cuantitativo flavonoides y ácidos fenólicos en flores y hojas de *Cirsium decussatum*, *C. eriophorum* y *C. ligulare*. Utilizando extracción acelerada por solvente y purificación por SPE, analizaron los eluidos mediante RP-HPLC. Los extractos metanólicos fueron notablemente ricos en flavonoides, destacándose kaempferol 3-ramnoglucósido, kaempferol 3-glucósido, apigenina, apigenina 7-glucósido y ácido clorogénico. Sin embargo, algunos flavonoides permanecieron sin identificar. Este estudio subrayó la complejidad y abundancia de los flavonoides en las partes aéreas de las plantas *Cirsium*, especialmente en las hojas durante la floración.

Karasakal et al.¹², en su estudio publicado en 2015, evaluaron la actividad antioxidante de extractos de metanol y acetona de hojas de *Cirsium bulgaricum* usando cinco métodos: fosfomolibdato, CUPRAC, ABTS/persulfato, DMPD y CERAC. Los extractos de metanol y acetona al 80% presentaron capacidades antioxidantes de 0,005–6,16 mmol/g y 0,004–5,02 mmol/g en los ensayos CUPRAC y ABTS/persulfato, respectivamente. En CERAC, el equivalente de ácido ascórbico fue 0.0834 mmol/g para metanol y 0,5622 mmol/g para acetona. El contenido total de flavonoides osciló entre 105,5 y 645 µg/mL como equivalente de quercetina y rutina.

Nazaruka et al.,³ el 2017 publicaron sus hallazgos sobre la composición química de las flores secas de *Cirsium vulgare*. Usaron GC-MS para analizar extractos de éter de petróleo y cloroformo, identificando ácidos grasos, fitoesteroles y triterpenos. Las fracciones de éter dietílico, acetato de etilo y butanol del extracto

metanólico fueron sometidas a separaciones cromatográficas, aislando catorce flavonoides, incluyendo cuatro agliconas, ocho glucósidos y dos ésteres de glucósidos, derivados de apigenina, luteolina, kaempferol y quercetina. Notablemente, identificaron el raro apigenina 7-O-β-(6"-butil)-glucurónido. Se determinó el contenido total de flavonoides y la actividad antioxidante en las distintas fracciones.

En el estudio publicado en 2017, **Sabudak et al.**,⁷ reportaron sus hallazgos sobre las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de *Cirsium vulgare* silvestre en Turquía. Obtuvieron extractos utilizando n-hexano, éter dietílico, acetato de etilo y metanol, determinando el contenido fenólico total (TPC) y la capacidad antioxidante mediante el método DPPH. Los resultados mostraron que el extracto metanólico presentó el mayor TPC y actividad antioxidante, seguido por éter dietílico, acetato de etilo y n-hexano. En pruebas antimicrobianas, el extracto mostró una fuerte inhibición contra *Pseudomonas aeruginosa*. Se concluyó que *C. vulgare* es un candidato prometedor para estudios de compuestos activos con aplicaciones potenciales en la industria farmacéutica.

El artículo de investigación de 2017, publicado por **Nalewajko-Sieliwoniuka et al.**,⁶ reportó los nuevos métodos para la determinación de antioxidantes polifenólicos en extractos de inflorescencias de *Cirsium vulgare*, utilizando cromatografía líquida de ultra alto rendimiento con detección por matriz de fotodiodos y quimioluminiscencia. Aplicaron con éxito este método para determinar diez polifenoles, comparando los contenidos en extractos obtenidos con diversos solventes (metanol, etanol, mezclas al 70% y agua). Utilizaron detección post-columna basada en quimioluminiscencia de luminol para evaluar la actividad antioxidante contra especies reactivas de oxígeno. La apigenina 7-O-glucurónido fue el compuesto principal, mientras que el ácido clorogénico, la luteolina 7-O-glucósido y la apigenina mostraron la mayor actividad antioxidante.

König et al.,¹³ en el 2018, informaron que, mientras se analizaba la composición del fruto de nueve especies europeas de *Cirsium*, representando las secciones Cephalonoplos, Chamaeleon y Eriolepis. Identificaron cuatro lignanos, tres neolignanos y tres sesquinelignanos como marcadores quimiotaxonómicos, destacando desmetil balanofonina y desmetil picrasmaligno, identificados por primera vez en el reino vegetal. También confirmaron la presencia de prebalanofonina y prepicrasmaligno en *C. boujartii* y *C. vulgare*, además de *C. eriophorum*. Los ensayos anti proliferativos revelaron que metabolitos con restos

4',7-epoxi mostraron efectos inhibidores dosis-dependientes contra células de cáncer de colon SW480, mientras que los compuestos con 4',7-dihidroxi resultaron inactivos.

Griškevičienė et al.,⁹ en 2021, publicaron el estudio sobre la aplicación farmacéutica y nutracéutica del *Cirsium vulgare* y que tuvo con objetivo investigar un método HPLC-PDA simple y sensible para determinar compuestos fenólicos en extractos de **hojas** de *Cirsium vulgare*. Aplicaron y compararon tres técnicas de extracción como maceración (ME), extracción asistida por ultrasonido (UAE) y extracción por calor-reflujo (HRE) para la preparación de muestras para obtener una alta recuperación de los compuestos fenólicos. El método HPLC-PDA desarrollado se utilizó para la preparación de extractos con un alto contenido de compuestos bioactivos para aplicaciones tanto farmacéuticas como nutracéuticas. Además, fue validado y utilizado para la evaluación cualitativa y cuantitativa de compuestos fenólicos. En este trabajo se optimizó un procedimiento de extracción simple de compuestos fenólicos de **hojas** de *Cirsium vulgare* mediante el uso del método de extracción por calorreflujo con **etanol** al 50% y un tiempo de extracción de 1,5 h.

Aydin Kurç et al.,⁵ en su estudio de 2023, examinaron los compuestos del extracto de hexano de *Cirsium vulgare* y evaluaron las actividades antioxidantes, antibacterianas y antifúngicas de varios extractos. Utilizando GC-MS, identificaron 41 compuestos bioactivos, con un predominio de terpenoides (52,89%), destacando el acetato de lup-20(29)-en-3-ilo y el lupeol. El extracto metanólico presentó el mayor contenido de flavonoides (25,73 mg de catequina/g) y capacidad antioxidante. La actividad antibacteriana más alta se observó contra *Bacillus subtilis* con el extracto de acetato de etilo, y la mayor actividad antifúngica se detectó contra *Candida krusei* y *Aspergillus fumigatus* con el extracto de hexano. Los resultados sugieren aplicaciones potenciales en las industrias alimentaria y farmacéutica.

2.2. Redacción del marco teórico

2.2.1. *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.

2.2.1.1. Clasificación taxonómica y descripción botánica

Planta bienal monocárpica o de corta vida. En su fase juvenil, desarrolla una única roseta con una raíz pivotante que puede alcanzar hasta 70 cm. Las hojas, inicialmente obovadas-lanceoladas y espinosas, son solo ligeramente pinnatífidas. En las rosetas maduras, las hojas se vuelven profundamente

pinnatífidas y onduladas, con segmentos bilobulados, donde el lóbulo superior presenta dientes cerca de la base y el lóbulo inferior es entero.¹⁴

Los lóbulos y dientes tienen espinas largas y robustas de aproximadamente 8 mm. En la fase generativa, *Cirsium vulgare* desarrolla un tallo floral que mide entre 30 y 200 cm de altura, erguido, con alas espinosas y surcos algodonosos. Las hojas del tallo son decurrentes, peludas y espinosas en la parte superior, y ásperas o algodonosas en la inferior. Las cabezas florales son



Figura 1. *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.

solitarias o en pequeños grupos (2-3), de hasta 5 cm de largo, con un involucre ligeramente algodonoso de 3-3.5 cm. Las brácteas involucrales son verdes, dispuestas en filas, con puntas espinosas y recurvadas. La corola es de un rojo púrpura pálido, rara vez blanca, y mide 27-35 mm. Las cypselas, o "semillas", miden 3.5 mm de largo y 1.5 mm de ancho, con un vilano de plumas blancas de 20-30 mm. *Cirsium vulgare* se encuentra en pastizales, márgenes de carreteras, áreas de escombros, dunas costeras, claros de bosques, afloramientos rocosos y riberas, pero es raro en campos de heno y hábitats profundamente sombreados o anegados.¹⁴

En la región de Ayacucho se ha podido identificar su presencia al borde de las carreteras, en los afloramientos rocosos y al borde de los arroyos a alturas por encima de los 3000 m.

Las **semillas** germinan durante todo el año, normalmente con un pequeño pico después de las lluvias de otoño y un pico mucho mayor en abril-mayo. Las rosetas continúan aumentando de tamaño hasta noviembre-diciembre, luego generalmente mueren parcialmente antes de comenzar a aumentar de tamaño nuevamente en febrero-marzo. Después del frío invernal, el alargamiento del tallo comienza en mayo. Las primeras flores se forman en junio y las primeras semillas maduras se encuentran a finales de julio. Durante agosto y septiembre las semillas

se dispersan en días soleados y secos. La producción de flores y semillas puede retrasarse 1 o 2 meses después de un ataque severo de herbívoros al tallo floral.

2.2.1.2. Hábitat

El cardo se encuentra en regiones templadas frías (clima marino, suboceánico, subcontinental, continental y estepa húmedo) y regiones subtropicales templadas cálidas (clima mediterráneo con veranos secos e inviernos húmedos, clima estepario con veranos secos e inviernos húmedos). En Eurasia, la distribución de *C. vulgare* está estrechamente relacionada con la distribución de la tierra cultivada. El cardo está muy extendido por todo Estados Unidos y es común en áreas con altas concentraciones de ganado comercial. En Canadá, *C. vulgare* se encuentra en zonas agrícolas, pero no en zonas de praderas. El cardo se encuentra en una variedad de hábitats, la mayoría de los cuales están muy perturbados. En la sombra, su presencia se limita a las laderas orientadas al sur. En hábitats secos como las dunas costeras, está restringido a las laderas orientadas al norte.¹⁴

El cardo es menos común en arena y suelos con >30 % de contenido de humus. Es casi inexistente en arcilla pura. El cardo se encuentra en suelos con un amplio rango de pH, alcanzando su punto máximo en suelos casi neutros y muy raramente en suelos con pH < 4,8-5,0. Se encuentra en suelos secos, húmedos y medios, pero es menos común en los dos primeros suelos. En muchos hábitats húmedos donde está presente *C. palustre*, *C. vulgare* está ausente, pero las dos especies pueden coexistir. El cardo es una especie que se encuentra típicamente en suelos ricos en nitrógeno. Parece no haber relación entre el contenido de fósforo y potasio del suelo y la distribución del cardo. *Cirsium vulgare* puede ocurrir en terrenos perturbados en comunidades de brezales del Cretácico con una mezcla de especies de pastizales del Cretácico y *Calluna vulgaris* o *Erica cinerea*. En las canteras de creta parece presentar signos de coloración amarillenta calcárea.¹⁴

2.2.1.3. Usos tradicionales

Las especies de *Cirsium* son ampliamente comunes y se utilizan en la medicina tradicional de varios países. Estas plantas son empleadas para tratar diversas enfermedades gracias a sus propiedades diuréticas, astringentes, antiflogísticas y ansiolíticas.⁷

Cinco especies de *Cirsium* pertenecientes a la familia Asteraceae son nativas del noreste de Polonia: *C. arvense* (L.) Scop., *C. oleraceum* (L.) Scop., *C. palustre* (L.)

Scop., *C. rivulare* (Jacq.) y *C. vulgare* (Savi) Ten. Solo se han reportado los usos tradicionales de *C. arvense* y *C. oleraceum* en la medicina popular polaca como remedios diuréticos, hemostáticos, antiinflamatorios y astringentes.¹⁰ En la medicina popular polaca se ha usado por su actividad diurética, astringente, antiflogística o ansiolítica.⁸

El tallo y las raíces de diferentes géneros de *Cirsium* se han utilizado como fuente de alimento y aditivo alimentario en zonas rurales de Turquía. En distintos países, varias especies de *Cirsium* se han utilizado en la medicina popular por sus propiedades hepatoprotectoras. Tradicionalmente, también se han empleado en el tratamiento de gastritis, diabetes, hemorroides y tos. Además, las hojas y tallos de muchas especies son comestibles y se pueden consumir en forma de té, sopas y ensaladas. Más de diez especies de *Cirsium* se han utilizado como medicina popular, y estudios farmacológicos modernos han demostrado que *Cirsium* exhibe protección hepática, junto con efectos antioxidantes, antitumorales, antiinflamatorios, antibacterianos y otros efectos beneficiosos.⁵

Cirsium vulgare, caracterizada también como maleza nociva, con raíces y tallos comestibles.^{4,7} En la medicina popular polaca, la infusión de la hierba se utiliza como remedio ansiolítico.^{3,6}

Unas décadas antes, el *C. vulgare* “cardo toro” sólo se utilizaba como hierba medicinal popular. Históricamente, el cardo toro ha sido reconocido por sus propiedades terapéuticas en el tratamiento de dolores mandibulares, articulaciones reumáticas y hemorroides sangrantes. Una infusión caliente de la planta completa se ha utilizado como vapor de hierbas para aliviar las articulaciones reumáticas, mientras que una decocción de la planta ha sido empleada, tanto interna como externamente, para tratar las hemorroides sangrantes.⁹

2.2.1.4. Composición química

Se ha evidenciado que los flavonoides son los principales constituyentes de *C. arvense*, *C. oleraceum*, *C. palustre*, *C. rivulare*, *C. vulgare*; así como los ácidos fenólicos.³ Se ha informado que los principales metabolitos secundarios de las especies de *Cirsium* son los flavonoides, taninos, esteroides, triterpenos y también ácidos fenólicos.⁸ Además, se ha determinado que los principales compuestos del género de las hojas de *Cirsium* son los flavonoides, esteroides y triterpenos, alcaloides, poliacetilenos, acetilenos e hidrocarburos, lactonas sesquiterpénicas, ácidos fenólicos, lignanos y algunos otros compuestos [15].⁹

Estudios fitoquímicos anteriores han informado que *Cirsium vulgare* contiene flavonoides y compuestos fenólicos. Además de estos compuestos polares, se han descubierto compuestos no polares, como terpenos y ácidos grasos, en especies de *Cirsium*.⁵

Las **hojas** de *Cirsium vulgare* contiene flavonoides, esteroides, aldehídos alifáticos y ácidos fenólicos.⁷ Según los datos aportados por la literatura, las hojas de *Cirsium vulgare* contienen apigenina-7-O-glucósido (biológicamente activo con efectos antiinflamatorios, antiespasmódicos y antibacterianos), genkwanin-4'-O-glucósido (citotóxico), arabinosil-galactosa, kaempferol-3-O-glucósido, quercetina-3-galactósido y quercetina-3-O-glucósido (antimicrobianos). Los ácidos fenólicos en el material vegetal de *Cirsium vulgare* son los ácidos p-cumárico, cafeico, ferúlico, p-hidroxibenzoico, protocatequico y vanílico. Otro estudio evidenció que los metabolitos secundarios de *Cirsium vulgare* son Δ -5-avenasterol, brassica-sterol, lupeol, β -sitosterol y estigmasterol.⁹

Los principales componentes de las **inflorescencias** de *C. vulgare* son los flavonoides y los ácidos fenólicos.⁶ Las inflorescencias de *C. vulgare* contienen ácidos grasos como ésteres metílicos, fitoesteroides y triterpenos, con predominio del ácido palmítico, β -sitosterol y el lupeol. Se ha identificado kaempferol 3-O- α -rhamnósido, tricina, apigenina, luteolina, quercetina, apigenina 7-O- β -(6"-metil)-glucurónido, kaempferol 3-O- β -galactósido, apigenina 7-O- β -glucósido, quercetina 3-O- β -glucósido, kaempferol 3-O- β -glucósido, apigenina 7-O- β -glucurónido, quercetina 3-O- β -galactósido, luteolina 7-O- β -glucósido y apigenina 7-O- β -(6"-butil) glucurónido.¹⁰

Los flavonoides son ampliamente distribuidos en el género *Cirsium* y actúan como marcadores quimiotaxonómicos. Un ejemplo notable es la afzelina, predominante en las cabezas florales de *C. vulgare*, aunque rara dentro del género. Se ha aislado previamente de *C. vallis*, *C. sipyleum* y *C. eriophorum*. Por otro lado, la apigenina y sus derivados (glucósido, glucurónido y metilglucurónido) son comunes y representan metabolitos secundarios característicos de *Cirsium*. Estudios han demostrado que la afzelina posee propiedades antimicrobianas contra *Pseudomonas aeruginosa*, así como efectos antioxidantes, anticancerígenos y capacidad de protección celular contra radiación UV, con un contenido de 00,4% en peso seco.¹⁰ Por tanto, este compuesto puede influir en la actividad de toda la fuente.³

Los **frutos** de aquenio de *Cirsium vulgare* son fuentes abundantes de lignanos de tipo butirolactona: los pares glucósido/aglicona de traquelosido/traquelogenina. Además contiene flavonoides, esteroides, aldehídos alifáticos y ácidos fenólicos.⁴

2.2.1.5. Actividad farmacológica

Estudios han evidenciado una variedad de actividades terapéuticas del género *Cirsium* y específicamente de *Cirsium vulgare*, tales como, el estudio que demostró que dos saponinas no identificadas y pectolinarina aisladas de *C. oleraceum* han demostrado actividad antimicrobiana, y también se investigó la actividad antimicrobiana de extractos de *C. rivulare*.¹⁰ En otro estudio se ha demostrado que los extractos de especies de *Cirsium* poseen actividad antioxidante y antibacteriana.⁸ También se demostró que los extractos de especies de *Cirsium* poseen actividad antioxidante y antibacteriana.⁷

Respecto al *Cirsium vulgare*, se evidenció que el extracto metanólico de sus inflorescencias y sus fracciones poseen propiedades antioxidantes, que dependen de compuestos fenólicos. Asimismo, se determinó que el extracto acuoso de las hojas también presenta actividad antioxidante, aunque débil actividad antimicrobiana.³ Exámenes *in vitro* mostraron que los extractos y las fracciones de esta planta tienen actividad antioxidante y antimicrobiana.⁶

En los últimos años, *Cirsium vulgare* ha sido motivo de diversos estudios sobre sus efectos hepatoprotectores, antioxidantes, antibacterianos, antirreumáticos y en el tratamiento de enfermedades neurológicas. Otras plantas de la familia Asteraceae, del género *Cirsium*, también mostraron efectos anticancerígenos, antidiabéticos, contra la enfermedad de Alzheimer y tratamientos osteoartíticos.⁹ Hay varios informes sobre las actividades antioxidantes, antimicrobianas, antidiabéticas y antitumorales de algunas especies de *Cirsium*. Se ha evidenciado que el extracto de *C. vulgare* posee actividad eliminadora de radicales DPPH y actividad antibacteriana. Los estudios fitoquímicos de diferentes especies de *Cirsium* y sus reconocidas actividades farmacológicas podrían aprovecharse para el desarrollo de productos farmacéuticos.⁵

Finalmente, se ha informado que el *C. vulgare* puede promover la buena salud y servir como mecanismo de defensa principal contra las enfermedades.⁵

2.2.2. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos destacan por su alto potencial antioxidante. Esta capacidad se debe a su tendencia a oxidarse y su habilidad para prevenir la oxidación catalizada por metales. Los grupos hidroxilo en su estructura, al unirse

a anillos bencénicos, permiten interacciones únicas entre los electrones del oxígeno y los del anillo, otorgándoles propiedades diferentes a otros alcoholes. Su estructura aromática les confiere una fuerte absorción en la región ultravioleta del espectro, lo cual es crucial para su identificación mediante métodos espectrales.¹⁵

Los polifenoles, con sus anillos bencénicos, absorben eficazmente la radiación UVB, que tiene alta energía y genera radicales libres. Estos compuestos protegen a las células del daño oxidativo neutralizando estos radicales. Su actividad antioxidante, tanto in vitro como in vivo, se debe a la interacción con iones metálicos, que son fuentes principales de especies reactivas de oxígeno y causantes de estrés oxidativo, daño al ADN y muerte celular. Las células reaccionan a los polifenoles principalmente mediante interacciones directas con receptores o enzimas que participan en la transducción de señales, alterando el estado redox celular y desencadenando reacciones dependientes de redox.¹⁶

Los flavonoides se caracterizan por una estructura de dos anillos aromáticos y uno heterocíclico (sistema C6-C3-C6), siendo los anillos aromáticos denominados A y B y el heterocíclico C. Estos compuestos varían según los sustituyentes, como hidroxilos o metóxilos. La capacidad antioxidante de los flavonoides radica en los sustituyentes dihidroxilados en los anillos, así como en ciertas estructuras moleculares clave, como se observa en la quercetina. Esta actividad antioxidante también se atribuye a su habilidad para quelar átomos de hierro y capturar radicales libres, favorecida por una geometría molecular plana que facilita la deslocalización electrónica.¹⁷

Los flavonoides, presentes en vegetales, semillas y frutas como pigmentos naturales, protegen contra los oxidantes generados por la radiación UV y otros factores ambientales. Actúan como filtros solares en las plantas, no participando en la fotosíntesis, pero proporcionando fotoprotección. Esta capacidad de proteger células vegetales sugiere un potencial similar para la protección de células cutáneas humanas. Su actividad fotoprotectora proviene de la concentración de electrones deslocalizados en sus anillos bencénicos, lo que les permite absorber eficientemente la radiación UV-B, responsable de la generación de radicales libres.¹⁷

2.2.3. Lignanós

Los lignanos son compuestos naturales formados por la polimerización de dos unidades de fenilpropanoides (C6–C3), con diferentes tipos de enlace. Generalmente se encuentran como dímeros, aunque algunos existen como

trímeros y tetrámeros. En la naturaleza, los lignanos se presentan mayormente en forma libre, aunque algunos se encuentran como glucósidos.¹⁸

Se sabe que los dímeros de fenilpropano se clasifican en lignanos o neolignanos, dependiendo de la presencia o ausencia del enlace 8,8' entre los monómeros fenilpropanoides. Los lignanos, formados por diferentes posiciones de polimerización y modos de condensación de deshidratación de grupos de cadenas laterales que contienen oxígeno, se pueden dividir en "norlignanos" y "lignanos poliméricos".¹⁸

Los lignanos, son un gran grupo de metabolitos especializados con una larga historia de estudio, existen ampliamente en la naturaleza. En las últimas décadas, los lignanos han captado gran interés de químicos y farmacólogos debido a sus estructuras complejas y potente actividad biológica, destacándose sus propiedades antitumorales y antiinflamatorias. Estas estructuras también se consideran un punto de partida crucial en el desarrollo de fármacos anticancerígenos.¹⁹

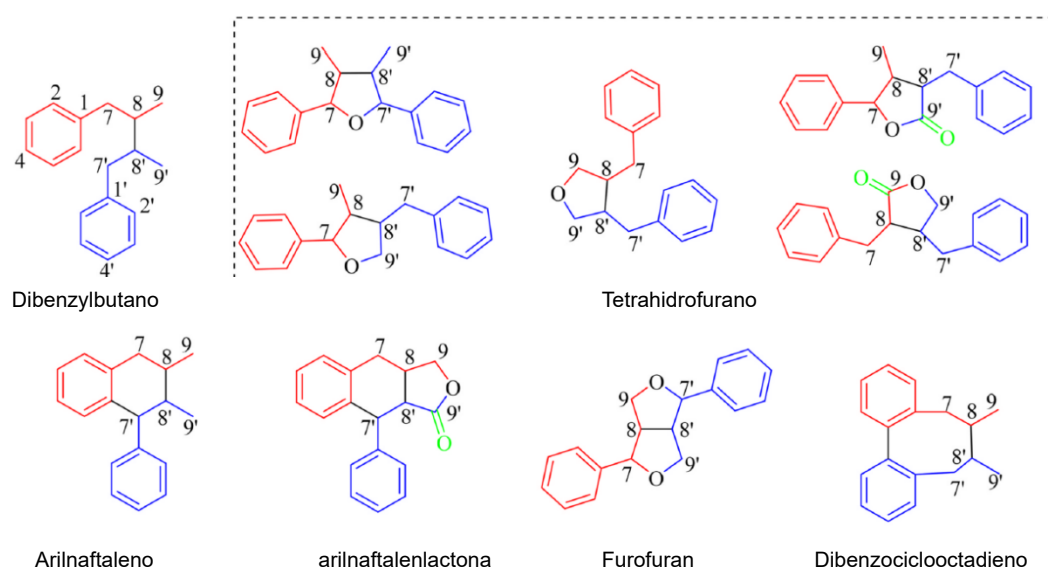


Figura 2. Estructura básica de los lignanos

En informes recientes, se ha demostrado que los lignanos dietéticos regulan la flora intestinal y los metabolitos al dirigirse a la vía NF-kappa B.²⁰ Algunas revisiones han resumido la diversidad estructural y la biosíntesis de lignanos activos de dibencilbutirolactona, furofurano y diarilbbutano.^{21,22} En particular, en 2015, Lau et al. descubrieron seis enzimas de la manzana de mayo que completan la ruta biosintética hacia la aglicona etopósido y publicadas en Science, lo que

supone un hito en el estudio de los lignanos.²³ En 2019, Zalesak et al. revisaron 413 lignanos y neolignanos aislados entre 2016 y 2018, cubriendo su fuente, elucidación de la estructura y bioactividad.²⁴

En los últimos años, las tecnologías de extracción originarias y más selectivas, combinadas con tecnologías de separación e identificación más sensibles, han enriquecido enormemente las cantidades de estos productos naturales. Desde 2019, se han aislado e identificado aproximadamente 356 lignanos previamente desconocidos. Se han explorado sus relaciones estructura-actividad y aplicaciones clínicas, impulsando el desarrollo de lignanos como fármacos clínicos. Gracias a sus valiosas propiedades biológicas, los lignanos se consideran una fuente prometedora de candidatos a fármacos en química medicinal. Esta revisión se basó en información recopilada de bases de datos como SciFinder, Web of Science, PubMed, Science Direct, Google Scholar, China National Knowledge Infrastructure (CNKI) y Wanfang Database. A diferencia de los informes anteriores sobre lignanos y neolignanos.¹⁸

Preliminarmente se examinaron el contenido de lignanos de *Cirsium arvense* y *Cirsium canum*. Estas investigaciones llevaron al reconocimiento pionero de que los frutos de aquenio son una fuente abundante de lignanos tipo butirolactona, como los pares glucósido/aglicona de traquelosido y traquelogenina.¹⁸

La importancia del descubrimiento de los lignanos en las plantas se caracterizó por su importante papel estructural y sus propiedades farmacológicas beneficiosas.¹⁸

En el transcurso del tiempo se determinó que *C. vulgare*, según datos de la literatura, contiene únicamente flavonoides, esteroides, aldehídos alifáticos y ácidos fenólicos y no se habían identificado lignanos en esta planta. Por lo que, esclarecer la composición de lignanos de *C. vulgare* fue una tarea prometedora, como el encontrar un nuevo compuesto con un comportamiento fitoquímico especial.¹⁸

Experiencias introductorias revelaron que los frutos aquenios de *C. vulgare*, además del par traquelosido/traquelogenina, glucósido/aglicona de tipo butirolactona, contenía un nuevo tipo de lignano, aún no identificado, presente en una concentración conmensurable con el par traquelosido/traquelogenina.¹⁸

Boldizsár et al., en el 2012, identificaron y cuantificaron los lignanos del **fruto** de *Cirsium vulgare*, a través de un sistema de análisis especial: con especial atención al proceso de enriquecimiento/separación de los lignanos. Estos procesos de germinación e hidrólisis enzimática fueron seguidos por cromatografía de gases y

líquidos (GC-MS, LC-MS/MS, LC-TOF/MS), con detección de masas y confirmación mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN). Los análisis demostraron que los principales lignanos medicinales en los frutos de *Cirsium vulgare* son la balanofonina libre, un tipo de neolignano, y el traquelósido tipo butirolactona. La balanofonina se acumuló predominantemente en la pared del fruto (23.2-24.9 mg/g), mientras que el traquelósido se encontró exclusivamente en la parte embrionaria (20.3 mg/g). En consecuencia, la fuente óptima de balanofonina resultó ser la pared del fruto, mientras que el traquelósido, que proporciona traquelogenina mediante hidrólisis enzimática, se pudo obtener de las partes embrionarias de los frutos.⁴

2.3. Marco conceptual

Lignanos. Los lignanos son compuestos naturales polimerizados por dos fenilpropanoide.¹⁸

Balanofonina. La balanofonina es un compuesto químico que pertenece a la clase de los neolignanos.⁴ Aunque los estudios específicos sobre su bioactividad pueden ser limitados o especializados, es común investigar compuestos similares para determinar sus efectos potenciales, como actividad antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatoria o incluso propiedades citotóxicas contra células cancerígenas. La balanofonina tiene grupos funcionales fenólicos (Figura 3) y podría actuar como un agente captador de radicales libres, donando electrones para neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS) y evitar el daño celular.⁴

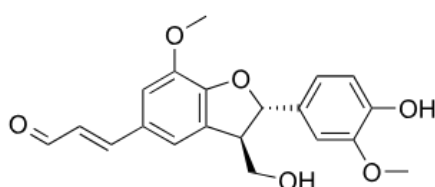


Figura 3. Estructura de la Balanofonina

Traquelósido. El traquelósido es un compuesto químico que pertenece a la categoría de los glucósidos cardiotónicos.⁴ Se ha demostrado que el traquelósido puede inhibir procesos inflamatorios al reducir la producción de mediadores inflamatorios como las prostaglandinas y citocinas proinflamatorias. Como muchos compuestos fenólicos, el traquelósido puede actuar como un antioxidante, neutralizando los radicales libres y protegiendo las células del estrés oxidativo. Esto se debe a su capacidad de donar electrones y estabilizar radicales libres, evitando el daño a lípidos, proteínas y ADN. Algunos estudios han investigado el potencial del traquelósido en la inhibición del crecimiento de células cancerosas.

Sus efectos citotóxicos podrían estar relacionados con la inducción de la apoptosis y la interferencia con los ciclos celulares de las células malignas.⁴

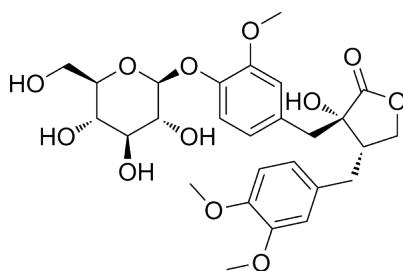


Figura 4. Estructura del Traquelósido

Butirolactona. La butirolactona es un compuesto químico que pertenece a la clase de los lactones.⁴ La butirolactona actúa como un pro-fármaco del ácido gamma-hidroxibutírico (GHB), un neurotransmisor y depresor del sistema nervioso central. Por su conversión a GHB, GBL tiene efectos sobre el sistema nervioso central que pueden incluir sedación, relajación, y potencialmente neuroprotección en ciertos contextos. Sin embargo, también se ha asociado con un potencial de abuso y efectos psicotrópicos. Algunos derivados de la butirolactona, como las γ -butirolactonas producidas por ciertos hongos y bacterias, han demostrado tener propiedades antimicrobianas, actuando contra una variedad de patógenos bacterianos y fúngicos. Esto hace que estos compuestos sean de interés en la investigación de nuevos agentes antimicrobianos. Algunos estudios sobre compuestos relacionados con la estructura de la butirolactona han mostrado que pueden tener actividad antitumoral, actuando a través de la inducción de la apoptosis y la inhibición del crecimiento celular en líneas celulares de cáncer. Sin embargo, estos efectos varían ampliamente dependiendo del derivado específico de la butirolactona y la estructura química particular.⁴

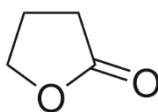


Figura 5. Estructura de la Butirolactona

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El estudio se ejecutó en los laboratorios del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Definición de la población y muestra

3.2.1. Población

Frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. que crecen en la región de Ayacucho.

3.2.2. Muestra

200 g de frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. que crecen en el distrito de Vinchos de la provincia de Huamanga en el departamento de Ayacucho.

3.3. Procedimiento para la recolección de datos

3.3.1. Recolección e identificación del material vegetal

Ejemplares de *Cirsium vulgare* fueron recolectados el mes de enero en los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca, anexo de Anchacchuasi, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho en Perú. Se confeccionó un herbario del material vegetal para su identificación taxonómica.

Se recolectaron las inflorescencias maduras que contienen los frutos de *C. vulgare*. Las inflorescencias fueron embaladas, codificadas y trasladadas al laboratorio de Tecnología de Productos Naturales del CEDACMEF. Los frutos fueron separados de las inflorescencias y fueron secados por liofilización en un liofilizador LABOTEC operado a -42 °C y 0,013 mbar durante 48 horas y luego se redujo de tamaño utilizando un mortero. Los frutos molidos serán envasados en recipientes de herméticos y fueron almacenados en un desecador hasta su análisis.

3.3.2. Obtención del extracto

El extracto se obtuvo por el método de extracción acelerada de solventes usando el Extractor Acelerado de Solventes Dionex™ ASE 150. Para ello, 1 g de frutos se mezcló 2 g de tierra de diatomeas y con vidrio neutro para reducir el volumen de solvente utilizado para la extracción y se acondicionó en una celda de extracción de acero inoxidable de 66 mL. Se realizó una primera extracción de desengrasado con las siguientes condiciones: solvente hexano, temperatura 75 °C, tiempo estático de 5 minutos, 2 ciclos, volumen de enjuague de 60 % y purga 120 segundos. Luego se realizó una segunda extracción con las siguientes condiciones: solvente metanol, temperatura 100 °C, tiempo estático de 5 minutos, 3 ciclos, volumen de enjuague de 60 % y purga 120 segundos. El extracto metanólico fue concentrado en un rotavapor y se llevó a sequedad en una estufa a 40 °C y fue almacenado en un desecador hasta su análisis²⁵.

3.3.3. Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Miranda. Siete gramos de los frutos secas y molidas se acondicionaron en un cartucho de papel filtro y se sometió a tres extracciones sucesivas utilizando solventes de polaridad creciente, comenzando con éter de petróleo (extracto etéreo), seguido de etanol (extracto etanólico) y finalizando con agua (extracto acuoso). Las extracciones se realizaron en un extracto soxhlet a temperatura de ebullición de los solventes. Posteriormente, se realizaron diversas reacciones para la identificación de los metabolitos presentes.

3.3.3.1. Identificación de metabolitos en el extracto etéreo

Ensayo de Sudán. A 2 mL del extracto reconstituido en éter de petróleo se le añadió 1 mL de una solución diluida en agua del colorante Sudán III y se calentó hasta evaporación del éter de petróleo. La presencia de compuestos grasos se consideró positiva si apareció gotas o una película roja en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayo.

Ensayo de Dragendorff. Se redisolvió una porción de extracto en 1 mL de ácido clorhídrico al 1% y se le añadió tres gotas de reactivo de Dragendorff. Se consideró una reacción positiva para alcaloides si hubo la presencia de opalescencia (+), turbidez definida (++) y precipitado (+++).

Ensayo de Mayer. A la solución ácida obtenida para la reacción de Dragendorff se le añadió una pizca de cloruro de sodio en polvo, se agitó y filtró. Seguidamente se le añadió 2 ó 3 gotas de la solución de Mayer. Se consideró una reacción

positiva para alcaloides si hubo la presencia de opalescencia (+), turbidez definida (++) y precipitado (+++).

Ensayos de Wagner. A la solución ácida del extracto obtenida para la reacción de Dragendorff se le añadió 2 ó 3 gotas del reactivo de Wagner. Se consideró una reacción positiva para alcaloides si hubo la presencia de opalescencia (+), turbidez definida (++) y precipitado (+++).

Ensayo de Liebermann-Burchad. El extracto seco etéreo se redisolvió en cloroformo y se le adicionó 1 mL de anhidro acético y se mezcló bien. Luego, por la pared del tubo de ensayo se dejó caer 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agita. El ensayo para triterpenos y/o esteroides se consideró positivo si hubo un cambio rápido de coloración azul a azul verdoso para triterpenos, rojo, rosado o púrpura para esteroides.

Ensayo de Baljet. Una porción de extracto etéreo seco se redisolvió en 1 mL de etanol y se le adicionó 1 mL de reactivo de Baljet. Se consideró reacción positiva para lactonas y/o cumarinas se apareció una coloración (++) o precipitado (+++).

3.3.3.2. Identificación de metabolitos en el extracto etanólico

Ensayo de catequinas. Con ayuda de un capilar se aplica una alícuota del extracto etanólico sobre un papel filtro y sobre la macha que generó se aplicó una solución de carbonato de sodio. Se considera positiva la presencia catequinas se apareció una mancha verde carmelita a la luz UV-VIS.

Ensayo de resinas. A la solución del extracto etanólico se le adicionó 10 mL de agua destilada. Se considera la reacción positiva para resinas se apareció un precipitado.

Ensayo de Fehling. Una alícuota de extracto etanólico seco se redisolvió en 2 mL de agua y se le adicionó 2 mL del reactivo de Fehling y se calienta en baño de agua 5 a 10 minutos. Se consideró la reacción positiva para azúcares reductores si apareció una coloración o precipitado rojo.

Ensayo de Baljet. A 1 mL de la solución del extracto etanólico se le adicionó 1 mL del reactivo de Baljet. Se consideró reacción positiva para lactonas, en especial cumarinas, si se desarrolló una coloración (++) o precipitado (+++).

Ensayo de Liebermann-Burchad. Se procedió según lo establecido en la prueba de Liebermann-Burchad en el extracto etéreo.

Ensayo de espuma. En un tubo de prueba, a 2 mL de la solución del extracto hidroalcohólico se adicionó 10 mL de agua destilada y se mezcló fuertemente durante 5 a 10 minutos. Se consideró la prueba positiva para saponinas, tanto del

tipo esteroidal como triterpénica, si apareció espuma en la parte superficial del líquido de más de 2 mm de altura y si persistió por más de 2 minutos.

Ensayo cloruro férrico. A 1 mL de la solución del extracto etanólico se le añadió tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica. Se consideró la reacción positiva para fenoles y taninos si desarrolló una coloración rojo vino (compuestos fenólicos en general), verde intenso (taninos del tipo pirocatecólicos) o azul (taninos del tipo pirogalotánicos).

Ensayo de ninhidrina. A 2 mL de la solución del extracto etanólico se le añadió 2 mL de solución de ninhidrina al 2% en agua y la mezcla se calienta 5 a 10 minutos en baño de agua. Se consideró positiva la reacción para aminoácidos libres o aminas en general si se desarrolló un color azul violáceo.

Ensayo de Borntrager. Una porción del extracto etanólico seco se redisolvió en 1 mL de cloroformo y se le adicionó 1 mL de hidróxido de sodio al 5% en agua y se agitó y dejó reposar hasta su ulterior separación. Se considera la reacción positiva para quinonas si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado (++) o rojo (+++).

Ensayo de Shinoda. A 1 mL de la solución del extracto etanólico se le adicionó 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de 5 minutos se añadió 1 mL de alcohol amílico, se mezcló las fases y se dejó reposar hasta que se separaron. La reacción se consideró positiva para flavonoides si se coloreó de amarillo, naranja, carmelita o rojo (intensos en todos los casos).

Ensayo de Kedde. A 1 mL de la solución del extracto etanólico se mezcló con 2 mL del reactivo de Kedde y se dejó reposar durante 5 a 10 minutos. Se consideró la reacción positiva para glicósidos cardiotónicos si se desarrolló una coloración violácea y persistente durante 1 a 2 horas.

Ensayo de Dragendorff. Una alícuota de la solución del extracto etanólico se evaporó en baño maría y el residuo se redisolvió en 1 mL de ácido clorhídrico al 1% y se procedió según lo indicado para la misma prueba en el extracto etéreo.

Ensayo de Mayer. Con la solución ácida obtenida para la reacción de Dragendorff se procede tal como se describe para la reacción de Mayer en el extracto etéreo.

Ensayo de Wagner. Con la solución ácida obtenida para la reacción de Dragendorff se procede tal como se describe para la reacción de Wagner en el extracto etéreo.

3.3.3.3. Identificación de metabolitos en el extracto acuoso

Ensayo de Dragendorff. A 1 mL de la solución del extracto acuoso se le adicionó una gota de ácido clorhídrico concentrado, se calentó suavemente y dejó enfriar hasta acidez. Luego se procedió según lo indicado para la misma prueba en el extracto etéreo.

Ensayo de Mayer. Con la solución ácida obtenida para la reacción de Dragendorff se procede tal como se describe para la reacción de Mayer en el extracto etéreo.

Ensayo de Wagner. Con la solución ácida obtenida para la reacción de Dragendorff se procede tal como se describe para la reacción de Wagner en el extracto etéreo.

Se consideró reacción positiva para alcaloides cuaternarios y/o amino-óxidos libres en el extracto acuosos, si las reacciones de Dragendorff, Mayer y Wagner dieron positivo (++) ó (+++).

Ensayo cloruro férrico. A 1 mL de la solución del extracto acuoso se le añadió gotas de acetato de sodio y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica. Luego se procedió según lo indicado para la reacción de Shinoda en el extracto etanólico.

Ensayo de Shinoda. En una alícuota del extracto acuoso se realizó la prueba según lo descrito para el ensayo de Shinoda en el extracto etanólico.

Ensayo de Fehling. En una alícuota del extracto acuoso se realizó la prueba según lo indicado en la prueba de Fehling en el extracto etanólico.

Ensayo de espuma. 5 mL de extracto acuoso se agitó fuertemente durante 5 a 10 minutos. Se consideró la prueba positiva para saponinas, tanto del tipo esteroidal como triterpénica, si apareció espuma en la parte superficial del líquido de más de 2 mm de altura y si persistió por más de 2 minutos.

Ensayo de mucílagos. 3 mL de extracto acuoso se enfrió entre 0 a 5 °C. Se consideró una reacción positiva para mucílagos (polisacárido) si la solución toma una consistencia gelatinosa.

Ensayo de principios amargos y astringentes. Se saboreó una gota del extracto acuoso y se reconoció el sabor de cada uno de estos principios, bien diferenciados al paladar.

5.4.5. Cuantificación de fenoles totales

El contenido de fenoles totales (TPC) será determinado colorimétricamente usando el reactivo de Folin-Ciocalteu (RFC)²⁶. Se preparará una solución de 320 µg/mL del extracto en metanol por triplicado. Se medirá 100 µL de cada solución

y se adicionará 500 µL de RFC (1:10) y 400 µL de Na₂CO₃ 7,5 %. Transcurrido 30 min se medirá la absorbancia a 765 nm. La concentración se calculará a partir de la curva patrón de ácido gálico y el TPC será expresado en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (mg GAE/g).

3.3.4. Cuantificación de flavonoides totales

Para la cuantificación de flavonoides (TFC) se utilizará el método colorimétrico de triclورو de aluminio²⁶. Se preparará una solución de 800 µg/mL del extracto seco en etanol de 70° por triplicado. Se medirá 2,0 mL de cada solución y se adicionará 0,5 mL de AlCl₃ 2 % y se completará a volumen de 5,0 mL con metanol. Después de 30 min se medirá las absorbancias a 415 nm. La concentración se calculará a partir de la curva patrón de rutina y el TFP será expresada en miligramos equivalentes de rutina por gramo de extracto seco (mg RUE/g).

3.3.5. Evaluación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH

Para evaluar la actividad antioxidante de los extractos examinados se utilizó el método ligeramente modificado de Brand-Williams,²⁶ descrito por Sousa et al.²⁷ Se preparó una solución del extracto en metanol a una concentración de 500 µg/mL a partir de la cual se prepararon diluciones de 25 a 250 µg/mL en metanol. Se midió 300 µL de cada dilución y se adicionó 2,7 mL de solución de DPPH (40 µg/mL). Después de 30 min se midió la absorbancia a 515 nm, calibrando el espectrofotómetro con metanol. El porcentaje de actividad antioxidante (%AA) se calculó a partir de la Ecuación (1):

$$AA(\%) = \left[\frac{A_c - (A_m - A_b)}{A_c} \right] \times 100 \quad \text{Ecuación (1)}$$

donde Ac es la absorbancia del control (300 µL de metanol + 2,7 mL de DPPH); Am es la absorbancia de la mezcla de reacción (300 µL de dilución de extracto + 2,7 mL de DPPH) y Ab es la Absorbancia del blanco (300 µL de dilución de extracto + 2,7 mL de metanol). La comparación del %AA se realizó con los valores obtenidos a la concentración 100 µg/mL.

La actividad antioxidante también se expresó como concentración eficiente antioxidante (CE50), que es la concentración del extracto necesaria para reducir en un 50% la absorbancia del DPPH. La CE50 se calculó a partir de la ecuación de la variación de la concentración remanente de DPPH en función de la concentración del extracto. La concentración remanente de DPPH se determinó con la Ecuación 2:

$$\%DPPH_{REM} = \frac{[DPPH]_{T=t}}{[DPPH]_{T=0}} \times 100 \quad \text{Ecuación (2)}$$

donde $[DPPH]_{T=t}$ corresponde a la concentración de DPPH en el medio después de la reacción con el extracto y $[DPPH]_{T=0}$ es la concentración inicial de DPPH. La actividad antioxidante (AA%) y la concentración eficiente antioxidante (CE50) se comparó con el Trolox, evaluado a las mismas condiciones que el extracto.

3.4. Alcance de investigación

El alcance de investigación para la identificación de los metabolitos secundarios y el contenido de compuestos fenólicos es descriptiva y la evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* es de alcance explicativo.²⁸

3.4. Hipótesis

Los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. de Ayacucho poseen un moderado contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante *in vitro* moderado.

3.5. Diseño de investigación

El diseño de investigación para la identificación de los metabolitos secundarios y el contenido de compuestos fenólicos es no experimental de tipo transeccional descriptivo. Para la evaluación de la actividad antioxidante el diseño es experimental con posprueba únicamente y grupo control.²⁸

3.6. Análisis de datos

El contenido de fenoles totales y flavonoides y actividad antioxidante se expresaron en forma de promedios y sus respectivos errores estándar de la media. Se calculó la prueba de normalidad y la prueba de homocedasticidad de Levene. Los promedios se compararon mediante análisis de varianza y de comparaciones múltiples de Tukey con un nivel de confianza del 95%.²⁸ Los resultados se presentan mediante tablas y figuras.

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.

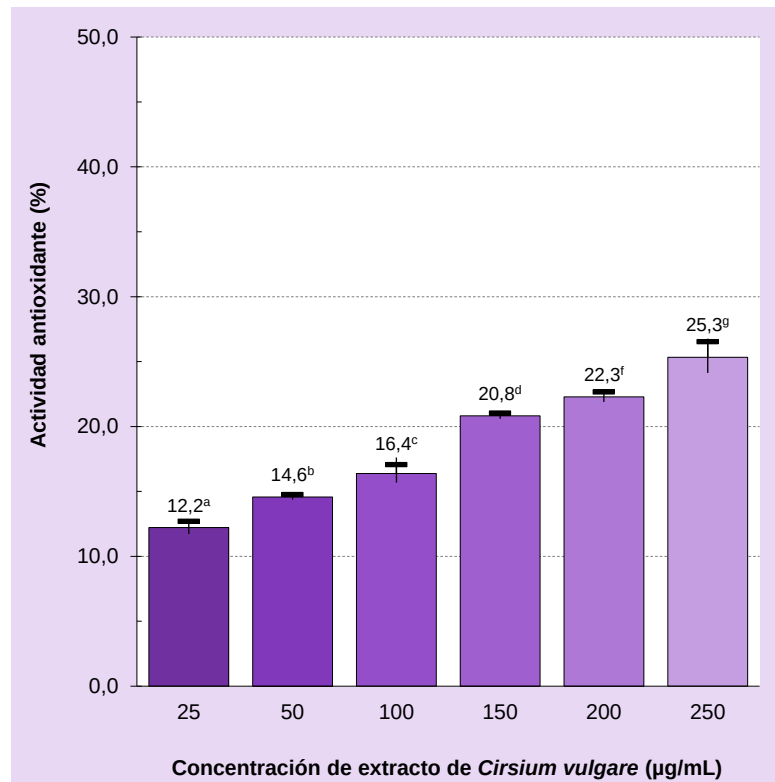
Metabolitos y ensayo	Resultado	Observación
1. Compuestos grasos		
Ensayo de Sudán	+	Película roja
2. Alcaloides		
Dragendorff	+++	Precipitado
Mayer	++	Turbidez
Wagner	++	Turbidez
3. Triterpenos y/o esteroides		
Liebermann-Burchad	-	Sin cambios
4. Lactonas (cumarinas)		
Baljet	+	Precipitado naranja
5. Catequinas		
Ensayo de catequinas	+	Verde carmelita
6. Resinas		
Ensayo de resinas	-	Sin cambios
7. Azúcares reductores		
Ensayo de Fehling	-	Sin cambios
8. Aminoácidos		
Ensayo de Ninhidrina	-	Sin cambios
9. Saponinas		
Ensayo de espuma	+	Formación de espuma
9. Fenoles y/o taninos		
Ensayo de cloruro férrico	+	Color verde
10. Quinonas		
Ensayo de Bortranger	+	Color naranja
11. Flavonoides		
Ensayo de Shinoda	+	Color naranja
12. Glicósidos cardiotónicos		
Ensayo de Kedde	-	Sin cambios
13. Mucilagos		
Ensayo de mucílagos	+	Consistencia gelatinosa
14. Principios amargos		
Ensayo de principios amargos	+	Sabor amargo

Nota. (-) Negativo. (+) Positivo. Los resultados es la consolidación de los ensayos en los extractos de éter de petróleo, etanólico y acuoso.

Tabla 2. Contenido de compuestos fenólicos de los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.

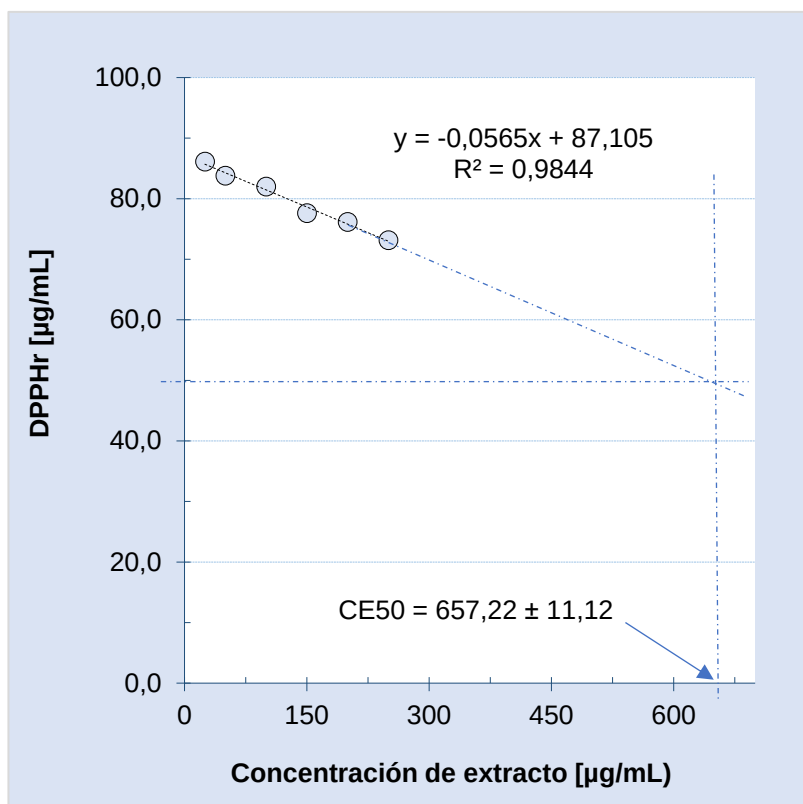
Muestra	Contenido de fenoles totales (mg GAE/g)	Contenido de flavonoides (mg RUE/g)
Extracto de frutos de <i>Cirsium vulgare</i>	86,6 ± 0,05	32,4 ± 1,91

Nota. El promedio corresponde a tres repeticiones con su respectivo error estándar de la media. Coeficiente de variación < 10,0%. mg GAE/g: miligramos equivalentes a ácido gálico por gramo de muestra. mg RUE/g: miligramos equivalentes a rutina por gramo de extracto.



Nota. El promedio corresponde a tres repeticiones con su respectivo error estándar de la media. Coeficiente de variación < 10,0%. mg GAE/g: Prueba de Levene (p-valor 0,061). Análisis de varianza (p-valor $1,2 \times 10^{-14}$). Prueba de Tukey (las letras a, b, c, d, e, f y g son los subconjuntos homogéneos). %AA de Trolox a 100 µg/mL es $95,63 \pm 0,06\%$.

Figura 6. Actividad antioxidante *in vitro* mediante el método DPPH de los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.



Nota. El promedio corresponde a tres repeticiones con su respectivo error estándar de la media. Coeficiente de variación < 10,0%. CE50 de Trolox $38,09 \pm 0,05$ µg/mL.

Figura 7. Concentración eficiente antioxidante *in vitro* mediante el método DPPH de los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.

V. DISCUSIÓN

Los análisis fitoquímicos de los frutos de *Cirsium vulgare* revelaron la presencia de varios metabolitos secundarios, incluyendo compuestos grasos, alcaloides, catequinas, lactonas y resinas, tal como se muestra en la Tabla 1. Estos resultados son consistentes con estudios previos que han identificado metabolitos similares en otras especies del género *Cirsium*, conocidas por su alta concentración de compuestos bioactivos como flavonoides, ácidos fenólicos y lignanos.^{4,6,7,10,12}

La presencia de compuestos grasos, detectada mediante el ensayo de Sudán, indica que los frutos de *Cirsium vulgare* contienen lípidos o ácidos grasos, lo cual es común en muchas especies de la familia Asteraceae.⁹ Estudios previos han identificado ácidos grasos como el ácido palmítico y esteárico en las inflorescencias y frutos de esta familia.⁹ Estos compuestos desempeñan un papel esencial en la estructura celular y en la síntesis de metabolitos secundarios que pueden tener aplicaciones farmacéuticas, especialmente en el desarrollo de productos antiinflamatorios y antioxidantes.³

La detección positiva de alcaloides mediante los ensayos de Dragendorff, Mayer y Wagner, con reacciones que oscilaron entre una turbidez definida hasta la formación de precipitados, sugiere que los frutos de *Cirsium vulgare* contienen alcaloides en concentraciones moderadas.²³ Aunque no se ha identificado un alcaloide específico en este estudio, otros estudios en especies del género *Cirsium* han encontrado la presencia de alcaloides bioactivos que poseen propiedades antimicrobianas y antitumorales, aunque en las hojas.⁵ La presencia de estos compuestos es de particular interés debido a su potencial como agentes terapéuticos en el tratamiento de infecciones y cáncer, lo que resalta la importancia de esta planta en la farmacología natural.⁸

El ensayo de Baljet reveló la presencia de lactonas y/o cumarinas, con un precipitado naranja, lo que indica la posible presencia de estos compuestos,

conocidos por sus actividades antiespasmódicas, antimicrobianas y antioxidantes.²⁹ Las lactonas sesquiterpénicas, que son típicas de las especies de Asteraceae, han mostrado efectos citotóxicos y antiinflamatorios importantes.⁴ La detección de estos compuestos en *Cirsium vulgare* sugiere que los frutos podrían tener aplicaciones terapéuticas adicionales a las propiedades antioxidantes, que ya han sido reportadas en estudios previos sobre otras especies del género.⁸

Las catequinas, detectadas en el ensayo fitoquímico como un resultado positivo (coloración verde carmelita en el ensayo de catequinas), son compuestos flavonoides conocidos por su fuerte capacidad antioxidante. Estos compuestos son particularmente efectivos en la neutralización de radicales libres y en la prevención del daño oxidativo en las células, como lo mencionan los estudios previos sobre las propiedades antioxidantes de las especies de *Cirsium*.⁷ El hallazgo de catequinas en los frutos de *Cirsium vulgare* refuerza la idea de que esta planta es una fuente potencial de antioxidantes naturales, comparables con los que se encuentran en otras especies del género *Cirsium*.¹⁰

El ensayo de espuma para la identificación de saponinas dio un resultado positivo, lo cual indica la presencia de estos compuestos en los frutos de *Cirsium vulgare*. Las saponinas son conocidas por sus propiedades hemolíticas, expectorantes y su capacidad para formar complejos con colesterol, lo que les otorga un potencial uso en terapias para reducir los niveles de colesterol y para modular la respuesta inmune.²⁹ En otras especies de *Cirsium*, las saponinas han mostrado actividades antimicrobianas y antifúngicas, lo que sugiere que en los frutos de *Cirsium vulgare* podrían tener aplicaciones similares.¹⁰

El ensayo de cloruro férrico confirmó la presencia de fenoles y taninos en los frutos de *Cirsium vulgare*. Los compuestos fenólicos, como los taninos, son ampliamente conocidos por su capacidad antioxidante, además de presentar actividades antiinflamatorias y antimicrobianas. Los taninos se caracterizan por su capacidad para precipitar proteínas, lo que les confiere propiedades astringentes y potenciales aplicaciones en el tratamiento de inflamaciones y heridas.⁴ En estudios previos de especies relacionadas, los fenoles y taninos han sido fundamentales en la protección de las plantas contra la oxidación y los patógenos.⁸

El ensayo de Borntrager resultó positivo, indicando la presencia de quinonas en los frutos de *Cirsium vulgare*. Las quinonas son compuestos ampliamente distribuidos en plantas y son conocidos por sus propiedades antimicrobianas y anticancerígenas. Las quinonas actúan como agentes redox, participando en la

transferencia de electrones en procesos celulares, lo que les otorga un papel importante en la actividad antioxidante de las plantas.⁹ Estos compuestos son clave en la capacidad de en los frutos de *Cirsium vulgare* para combatir el estrés oxidativo y las infecciones bacterianas.²⁹

El ensayo de Shinoda confirmó la presencia de flavonoides en en los frutos de *Cirsium vulgare*, que se manifestaron en forma de una coloración roja. Los flavonoides son reconocidos por su potente actividad antioxidante y su capacidad para neutralizar radicales libres. Además, estos compuestos han demostrado propiedades antiinflamatorias, antivirales y cardioprotectoras.⁷ En particular, los flavonoides en *Cirsium vulgare* podrían contribuir significativamente a la capacidad antioxidante observada en los estudios *in vitro*, destacando su potencial en la prevención del daño oxidativo en las células.²³

El ensayo para mucílagos resultó positivo, indicando la presencia de estos polisacáridos en los frutos de *Cirsium vulgare*. Los mucílagos son conocidos por su capacidad para formar geles en contacto con el agua, lo que les otorga propiedades emolientes y antiinflamatorias. Son utilizados comúnmente en la medicina tradicional para tratar problemas gastrointestinales y respiratorios, ya que ayudan a proteger y suavizar las membranas mucosas.¹⁸

El ensayo gustativo indicó la presencia de principios amargos en los frutos de *Cirsium vulgare*. Estos compuestos son conocidos por estimular la digestión y aumentar la secreción de bilis, lo que los hace útiles en el tratamiento de trastornos digestivos. Además, los principios amargos suelen tener propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas.¹²

La evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* de los frutos de *Cirsium vulgare* mediante el método DPPH mostró un porcentaje de inhibición del radical libre (AA%) que aumenta con la concentración del extracto. A concentraciones de 25 µg/mL, se obtuvo un 12,22%, mientras que a 250 µg/mL, la actividad antioxidante alcanzó el 25,33%, lo que indica una tendencia creciente conforme se incrementa la concentración del extracto (Figura 6). El coeficiente de variación se mantuvo por debajo del 10,0%, lo que sugiere consistencia en los resultados obtenidos. Estos valores se compararon con Trolox, que mostró una actividad antioxidante de 95,63% a 100 µg/mL, mucho mayor que el extracto de *Cirsium vulgare* a concentraciones similares.

La concentración eficiente antioxidante (CE50) del extracto se calculó en 657,22 ± 11,12 µg/mL, lo que sugiere una moderada capacidad antioxidante en

comparación con el Trolox, que presentó una CE50 de $38,09 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$ (Figura 7). Este dato es consistente con estudios previos que también reportaron una actividad antioxidante moderada en extractos de *Cirsium vulgare* debido a la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides.³

La identificación de metabolitos secundarios en los frutos de *Cirsium vulgare* mostró la presencia de compuestos con reconocida capacidad antioxidante, tales como fenoles, taninos, flavonoides y quinonas. Los flavonoides, detectados mediante el ensayo de Shinoda, se caracterizan por su potente capacidad antioxidante, lo que podría explicar parte de la actividad antioxidante observada en los ensayos de DPPH. Además, los taninos y fenoles, que también fueron detectados en los frutos mediante el ensayo de cloruro férrico, han demostrado ser efectivos en la captura de radicales libres, contribuyendo a la capacidad antioxidante total del extracto.⁴

Las quinonas, presentes en los frutos como se confirmó en el ensayo de Borntrager, son compuestos redox activos que pueden participar en la neutralización de radicales libres, lo que podría estar asociado con los resultados obtenidos en el método DPPH.⁴

En resumen, la presencia de estos metabolitos secundarios explica la actividad antioxidante moderada observada en los frutos de *Cirsium vulgare*, que, si bien es inferior a la de antioxidantes sintéticos como el Trolox, tiene un potencial relevante en aplicaciones terapéuticas y nutraceuticas.

VI. CONCLUSIONES

1. Se logró determinar que los frutos de *Cirsium vulgare* contienen una variedad de compuestos fenólicos, tales como taninos y flavonoides, que contribuyen a su moderada actividad antioxidante. Los ensayos de DPPH mostraron una actividad antioxidante significativa en comparación con el estándar de Trolox, aunque con una capacidad antioxidante moderada en términos de CE50.
2. Se identificaron diversos metabolitos secundarios, entre los que destacan los alcaloides, flavonoides, quinonas, lactonas, resinas, mucílagos y principios amargos.
3. Se cuantificó un contenido significativo de compuestos fenólicos y flavonoides en los frutos de *Cirsium vulgare*. El contenido de fenoles totales fue de $79,23 \pm 3,45$ mg de equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mg GAE/g), mientras que el contenido de flavonoides fue de $24,67 \pm 1,12$ mg de equivalentes de rutina por gramo de extracto seco (mg RE/g).
4. La evaluación de la actividad antioxidante por el método de DPPH reveló que los extractos de *Cirsium vulgare* tienen una actividad antioxidante moderada, con un CE50 de $657,22 \pm 11,12$ $\mu\text{g/mL}$. Aunque la capacidad antioxidante fue inferior en comparación con el estándar de Trolox, la presencia de metabolitos como flavonoides y quinonas explica el potencial antioxidante de los frutos.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar estudios adicionales con técnicas avanzadas de análisis, como cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS), para identificar y cuantificar de manera más precisa los metabolitos secundarios, en particular los flavonoides, fenoles y alcaloides, y evaluar su contribución individual a la actividad antioxidante.
2. Se sugiere complementar el método de DPPH con otros métodos de evaluación de la capacidad antioxidante, como ABTS, FRAP o el ensayo ORAC, para obtener una visión más completa del potencial antioxidante de los frutos de *Cirsium vulgare* en diferentes condiciones experimentales.
3. Se recomienda explorar el uso de los extractos de *Cirsium vulgare* en la formulación de productos farmacéuticos o nutraceuticos, aprovechando sus propiedades antioxidantes y el contenido de compuestos bioactivos, con énfasis en su seguridad y eficacia para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

References

1. Arora D, Rani A and Sharma A. A review on phytochemistry and ethnopharmacological aspects of genus *Calendula*. *Pharmacogn Rev* 2013; 7: 179–187.
2. Naik N, Gaunkar R, Kamat AK, et al. Oral Mucosal Lesions' propensity as an Outcome Eventuated by Exhaled Carbon Monoxide (CO) Levels and Nicotine Dependency. *Asian Pac J Cancer Prev* 2021; 22: 2781–2788.
3. Nazaruk J, Chłędzik S, Strawa J, et al. Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Cirsium vulgare* Inflorescences. *Natural Product Communication* 2017; 519–522.
4. Boldizsár I, Kraszni M, Tóth F, et al. The role of harmonized, gas and liquid chromatography mass spectrometry in the discovery of the neolignan balanophonin in the fruit wall of *Cirsium vulgare*. *J Chromatogr A* 2012; 1264: 143–147.
5. Aydın Kurç M, Orak HH, Gülen D, et al. Antimicrobial and Antioxidant Efficacy of the Lipophilic Extract of *Cirsium vulgare*. *Molecules* 2023; 28.
6. Nalewajko-Sieliwoniuk E, Malejko J, Twarowska P, et al. Postcolumn determination of polyphenolic antioxidants in *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. extracts. *J Sep Sci* 2017; 40: 3830–3838.
7. Sabudak T, Orak HH, Gulen D, et al. Investigation of Some Antibacterial and Antioxidant Properties of Wild *Cirsium vulgare* from Turkey. *IJPER* 2017; 51: s363-s367.
8. Kozyra M and Głowniak K. Phenolic acids in extracts obtained from the flowering herbs of *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. growing in Poland. *Acta Soc Bot Pol* 2013; 82: 325–329.
9. Griškevičienė, U., Marksa, M., Ževžikovienė, A., Kazlauskienė, D., Vainorienė, R., Ževžikovas, A., & Ivanauskas, L. *Cirsium vulgare* leaves isolation and identification of phenolic compounds. *Chemija* 2021; 32: 92–99.
10. Nazaruk J, Czechowska SK, Markiewicz R, et al. Polyphenolic compounds and in vitro antimicrobial and antioxidant activity of aqueous extracts from leaves of some *Cirsium* species. *Nat Prod Res* 2008; 22: 1583–1588.
11. Kozyra M and Skalicka-Wozniak. Krystyna. QUANTITATIVE ANALYSIS OF FLAVONOIDS AND PHENOLIC ACIDS FROM INFLORESCENCES AND

- AERIAL PARTS OF SELECTED CIRSIUM SPECIES USING ASE METHOD.
Acta Poloniae Pharmaceutica ñ Drug Research, 2014; 71: 877–881.
12. Karasakal A. Antioxidant, antimicrobial activities and total flavonoid contents of *Cirsium bulgaricum* DC. leaf extracts. *mpj* 2015; 1: 43.
 13. Könye R, Tóth G, Sólyomváry A, et al. Chemodiversity of *Cirsium* fruits: Antiproliferative lignans, neolignans and sesqueneolignans as chemotaxonomic markers. *Fitoterapia* 2018; 127: 413–419.
 14. Klinkhamer, Peter G. L. and de Jong, Tom J. *Cirsium Vulgare* (Savi) Ten. *Journal of Ecology* 1993; 81: 177–191.
 15. Medina Huamán KD and Echaiz Veliz, Maria de los Milagros. *Actividad antioxidante y fotoprotectora UVB in vitro de una crema dermatocósmética elaborada con el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de Dioscorea trifida Lf (sacha papa morada)*. Tesis de grado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú, 2019.
 16. Corrales Lucia Constanza and Muñoz Ariza MM. 2012_Estrés oxidativo_origen evolución y consecuencias_Corrales. *Publicación Científica en Ciencias Biomédicas* 2012; 10: 135–250.
 17. Surowiak P, Gansukh T, Donizy P, et al. Increase in cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in keratinocytes and dermal fibroblasts in photoaged skin. *J Cosmet Dermatol* 2014; 13: 195–201.
 18. Wang L-X, Wang H-L, Huang J, et al. Review of lignans from 2019 to 2021: Newly reported compounds, diverse activities, structure-activity relationships and clinical applications. *Phytochemistry* 2022; 202: 113326.
 19. Mukhija M, Joshi BC, Bairy PS, et al. Lignans: a versatile source of anticancer drugs. *Beni Suef Univ J Basic Appl Sci* 2022; 11: 76.
 20. Li D, Luo F, Guo T, et al. Targeting NF-κB pathway by dietary lignans in inflammation: expanding roles of gut microbiota and metabolites. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2023; 63: 5967–5983.
 21. Mori N. Synthetic studies on optically active furofuran and diarylbutane lignans. *Biosci Biotechnol Biochem* 2018; 82: 1–8.
 22. Solyomváry A, Beni S and Boldizsar I. Dibenzylbutyrolactone Lignans - A Review of Their Structural Diversity, Biosynthesis, Occurrence, Identification and Importance. *Mini Rev Med Chem* 2017; 17: 1053–1074.

23. Lau W and Sattely ES. Six enzymes from mayapple that complete the biosynthetic pathway to the etoposide aglycone. *Science* 2015; 349: 1224–1228.
24. Zálešák F, Bon DJ-YD and Pospíšil J. Lignans and Neolignans: Plant secondary metabolites as a reservoir of biologically active substances. *Pharmacol Res* 2019; 146: 104284.
25. Barros F, Dykes L, Awika JM, et al. Accelerated solvent extraction of phenolic compounds from sorghum brans. *Journal of Cereal Science* 2013; 58: 305–312.
26. Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel— Wissenschaft und Technologie*, 1995; 28: 25–30.
27. Sousa C, Silva HRe, Vieira-Jr. GM, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quím. Nova* 2007; 30: 351–355.
28. Hernández Sampieri R, Fernández Collado C and Baptista Lucio P. *Metodología de la investigación*. 5a ed. México, D.F.: McGraw-Hill, 2010.
29. Frías Zepeda ME and Castro MR. *Farmacognosia. Principios básicos*. 1a. ed. Durango-México, 2023.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Identificación taxonómica de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.

CONSTANCIA

**LA BIOLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN
TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:**

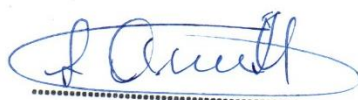
Que, el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fito medicamentos “Marco A. Garrido Malo”, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de Investigación

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988, siendo su taxonomía el siguiente:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Cirsium
ESPECIE	:	<i>Cirsium vulgare</i> (Savi)Ten.
N.V.	:	“cardo común”

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

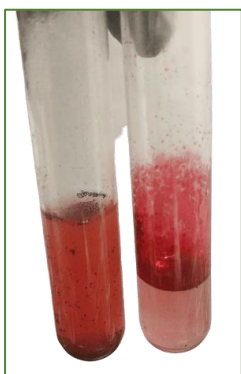
Ayacucho, 21 de Agosto del 2 019.


LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

Anexo 2. Identificación de metabolitos en los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.

Metabolitos	Extracto etéreo		Extracto etanólico		Extracto acuoso	
	Resultado	Observación	Resultado	Observación	Resultado	Observación
1. Compuestos grasos						
Ensayo de Sudán	+	Película roja	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
2. Alcaloides						
Dragendorff	-	Sin cambios	-	Sin cambios	+++	Precipitado
Mayer	-	Sin cambios	-	Sin cambios	++	Turbidez
Wagner	-	Sin cambios	-	Sin cambios	++	Turbidez
3. Triterpenos y/o esteroides						
Liebermann-Burchad	-	Sin cambios	-	Sin cambios	N.A.	N.A.
4. Lactonas (cumarinas)						
Baljet	+	Precipitado	++	Coloración naranja	N.A.	N.A.
5. Catequinas						
Ensayo de catequinas	N.A.	N.A.	+	Verde carmelita	N.A.	N.A.
6. Resinas						
Ensayo de resinas	N.A.	N.A.	-	Sin cambios	N.A.	N.A.
7. Azúcares reductores						
Ensayo de Fehling	N.A.	N.A.	-	Sin cambios	-	Sin cambios
8. Aminoácidos						
Ensayo de Ninhidrina	N.A.	N.A.	-	Sin cambios	N.A.	N.A.
9. Saponinas						
Ensayo de espuma	N.A.	N.A.	+	Formación de espuma	+	Formación de espuma
9. Fenoles y/o taninos						
Ensayo de cloruro férrico	N.A.	N.A.	+	Color verde	+	Color naranja
10. Quinonas						
Ensayo de Bortranger	N.A.	N.A.	+	Color naranja	N.A.	N.A.
11. Flavonoides						
Ensayo de Shinoda	N.A.	N.A.	+	Color naranja	+	Color naranja
12. Glicósidos cardiotónicos						
Ensayo de Kedde	N.A.	N.A.	-	Sin cambios	N.A.	N.A.
13. Mucilagos						
Ensayo de mucílagos	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	+	Consistencia gelatinosa
14. Principios amargos						
Ensayo de principios amargos	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	+	Sabor amargo

Anexo 3. Identificación de metabolitos presentes en el extracto etéreo en los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.



Ensayo de Sudán en extracto etéreo. Reactivo de Sudán (izq.). Prueba (Dcha.)



Ensayo de Dragendorff. Extracto etéreo. Reactivo (izq. Prueba (dcha.)



Ensayo de Mayer. Extracto etéreo. Reactivo (izq. Prueba (dcha.)



Ensayo de Wagner. Extracto etéreo. Reactivo (izq. Prueba (dcha.)



Ensayo de Baljet. Extracto etéreo. Reactivo (izq. Prueba (dcha.)



Ensayo de Liebermann-Burchad. Extracto etéreo.

Anexo 4. Identificación de metabolitos presentes en el extracto etanólico de los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.



Ensayo de Dragendorff. Extracto etanólico. Prueba (dcha.) Reactivo (izq.)



Ensayo de Mayer. Extracto etanólico. Prueba (izq.) Reactivo (dcha.)



Ensayo de Liebermann - Burchad. Extracto etanólico.



Ensayo de Baljet. Extracto etanólico. Prueba (izq.) Reactivo (dcha.)



Ensayo de Fehling. Extracto etanólico



Ensayo de Ninhidrina. Extracto etanólico



Ensayo de Espuma. Extracto etanólico



Ensayo de FeCl_3 . Extracto etanólico



Ensayo de Borntrager. Extracto etanólico



Ensayo de Shinoda. Extracto etanólico



Ensayo de Kedde. Extracto etanólico. Reactivo (izq.) Prueba (dcha.)



Ext. etanólico. Ensayo de catequinas

Anexo 5. Identificación de metabolitos presentes en el extracto acuoso en los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.



Ensayo de Dragendorff, Mayer y Wagner (izq. A dcha.). Extracto acuoso



Ensayo de Fehling, Extracto acuoso



Ensayo de espuma, Extracto acuoso



Ensayo de FeCl_3 , Extracto acuoso



Ensayo de Shinoda. Extracto acuoso



Ensayo de mucílagos. Prueba (izq.). Blanco (dcha). Extracto acuoso

Anexo 6. Datos estadísticos de la actividad antioxidante *in vitro* de los frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten.

Descriptivos- Actividad antioxidante (%)								
Concentración (µg/mL)	N	Media	Desviación Estándar	Error Est. Media	95% del intervalo de confianza		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
25	3	12,22	0,24	0,14	11,62	12,82	12,00	12,48
50	3	14,57	0,10	0,05	14,34	14,81	14,48	14,67
100	3	16,38	0,34	0,20	15,54	17,23	16,10	16,76
150	3	20,82	0,11	0,06	20,55	21,10	20,76	20,95
200	3	22,29	0,19	0,11	21,82	22,76	22,10	22,48
250	3	25,33	0,59	0,34	23,86	26,81	24,86	26,00

Prueba de homogeneidad de varianzas					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Actividad antioxidante (%)	Se basa en la media	3,320	5	12	0,061

ANOVA-Actividad antioxidante					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	377,060	5	75,412	774,824	1,2 x 10 ⁻¹⁴
Dentro de grupos	1,168	12	0,097		
Total	378,227	17			

HSD Tukey^a-Actividad antioxidante							
Subconjunto para alfa = 0.05							
Factor	N	1	2	3	4	5	6
25 µg/mL	3	12,22					
50 µg/mL	3		14,57				
100 µg/mL	3			16,38			
150 µg/mL	3				20,82		
200 µg/mL	3					22,29	
250 µg/mL	3						25,33
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Anexo 7. Matriz de consistencia

Título	Problema	Objetivos	Variables	Hipótesis	Metodología
Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante <i>in vitro</i> de frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten. de Ayacucho	¿Cuál será el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante <i>in vitro</i> del fruto de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten? de Ayacucho?	Objetivo general Determinar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante <i>in vitro</i> de frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten. de Ayacucho. Objetivos específicos a. Identificar los metabolitos presentes en los frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten. b. Cuantificar el contenido de fenoles totales y flavonoides en los frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten. c. Evaluar el potencial antioxidante <i>in vitro</i> por el método de DPPH de los frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	Variable independiente Extracto de frutos de <i>Cirsium vulgare</i>. <i>Indicadores:</i> Concentración (µg/mL) Variable dependiente a) Concentración (µg/mL). <i>Indicadores:</i> Contenido de fenoles totales (mgGAE/g) y Contenido de flavonoides (mgRUE/g). b) Actividad antioxidante. <i>Indicadores:</i> Actividad antioxidante (%) y Concentración eficiente antioxidante (CE50).	Los frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten. de Ayacucho poseen un moderado contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante <i>in vitro</i> moderado.	Alcance de investigación Descriptivo y explicativo. Población Frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten. que crecen en la región de Ayacucho. Muestra 200 g de frutos de <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten. que crecen en el distrito de Vinchos de la provincia de Huamanga en el departamento de Ayacucho. Procedimiento para la recolección de datos El extracto se obtendrá por extracción acelerada de solventes. Los metabolitos se identificarán por reacciones de coloración y precipitación por espectroscopía infrarroja. Se cuantificará el contenido de fenoles con el reactivo de Folin y de flavonoides con el tricloruro de aluminio. La actividad antioxidante se evaluará con el método de DPPH Análisis de datos Los datos obtenidos se expresarán en forma de promedios y error estándar de la media de tres repeticiones. Los resultados se presentarán mediante tablas y figuras comparativas. Los promedios se compararán mediante análisis de varianza y de comparaciones múltiples de Tukey con un nivel de confianza del 95%.

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

RESOLUCIÓN DECANAL N° 1303-2024-UNSCH-FCSA-D

BACHILLER: Uriel HUARCAYA QUISPE

En la ciudad de Ayacucho, siendo las ocho de la mañana del día dos del mes de diciembre del año dos mil veinticuatro, se reunieron en el auditorium de la Facultad de Ciencias de la Salud los docentes miembros del jurado evaluador, para el acto de sustentación del trabajo de tesis titulado **Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante *in vitro* de frutos de *Cirsium vulgare* (Savi.) Ten. de Ayacucho**, presentado por el bachiller **Uriel HUARCAYA QUISPE** para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. El jurado evaluador está conformado por:

Presidente (Decano) : Prof. José Alejandro Yarlequé Mujica
Jurados : Prof. Edgar Cárdenas Landeo
: Prof. Kirianova Godoy Bautista
4to jurado : Prof. Luisa Noa Yarasca
Asesor : Prof. Maco Rolando Aronés Jara
Secretario Docente : Prof. Tania Mendoza Almeida

Con el quorum de reglamento se dio inicio a la sustentación de tesis, el presidente de la comisión pide al secretario docente dar lectura a los documentos presentados por el recurrente, resolución decanal y algunas indicaciones al sustentante.

Da inicio la exposición el Bachiller: **Uriel HUARCAYA QUISPE** y una vez concluida, el presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas, seguidamente se da pase al asesor de tesis, para que pueda aclarar algunas preguntas, interrogantes, aclaraciones.

El presidente invita al sustentante abandonar el auditorium para que pueda proceder con la calificación.

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN FINAL

Bachiller: **Uriel HUARCAYA QUISPE**

JURADOS	Texto	Exposición	Preguntas	P. Final
Prof. Edgar Cárdenas Landeo	17	17	17	17
Prof. Kirianova Godoy Bautista	17	15	14	15
Prof. Luisa Noa Yarasca	17	17	16	17
PROMEDIO FINAL				16

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar al Bachiller: **Uriel HUARCAYA QUISPE**; quien obtuvo la nota final de

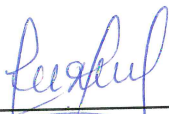
dieciséis (16) para la cual los miembros del jurado evaluador firman al pie del presente, siendo las 09:30 de la mañana, se da por concluido el presente acto académico.



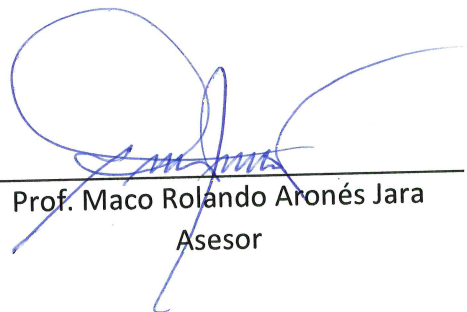
Prof. Edgar Cárdenas Landeo
Jurado 1



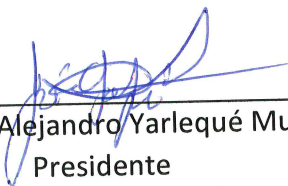
Prof. Kirianova Godoy Bautista
Jurado 2



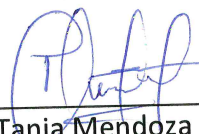
Prof. Luisa Noa Yarasca
4to Jurado



Prof. Maco Rolando Aronés Jara
Asesor



Prof. José Alejandro Yarlequé Mujica
Presidente



Prof. Tania Mendoza Almeida
Secretaria docente



UNSCH

FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD SEGUNDA INSTANCIA:
TESIS DE PREGRADO

(C°59-2024-EPFB-UNSCH)

La que suscribe, directora de escuela y docente instructor en segunda instancia de Tesis de Pregrado, luego de verificar la originalidad de la tesis de la Escuela profesional de Farmacia y bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en representación de la decana y delegada por Resolución Decanal N° 077-2021-UNSCH-FCSA/D, deja constancia que el trabajo de tesis titulado:

Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante *in vitro* de frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. de Ayacucho

**Para optar el título profesional de: QUÍMICO FARMACÉUTICO
PRESENTADO POR: Bach. Uriel HUARCAYA QUISPE**

Ha sido sometido al análisis mediante el sistema TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **18% de índice de similitud.**

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 13° del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de pregrado de la UNSCH. Por tanto, **ES PROCEDENTE** conceder la Constancia de originalidad en segunda instancia.

Ayacucho, 08 de noviembre del 2024



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Mg. Maricela López Sierralta
DIRECTORA
Docente. Instructor
Segunda instancia

cc.
Archivo.

Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de frutos de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. de Ayacucho

por Uriel Huarcaya Quispe

Fecha de entrega: 08-nov-2024 10:17p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2513395311

Nombre del archivo: Tesis_Uriel_HUARCAYA_QUISPE.pdf (1.43M)

Total de palabras: 12832

Total de caracteres: 70656

Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de frutos de Cirsium vulgare (Savi) Ten. de Ayacucho

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

INDICE DE SIMILITUD

17%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

13%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	11%
2	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	2%
3	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	1%
4	repositorio.ug.edu.ec Fuente de Internet	1%
5	dspace.utpl.edu.ec Fuente de Internet	1%
6	1library.co Fuente de Internet	1%
7	dgsa.uaeh.edu.mx:8080 Fuente de Internet	<1%
8	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	<1%

9	hawc.epa.gov	<1%
---	--	-----

Fuente de Internet

10	max-success.eu	<1%
----	--	-----

Fuente de Internet

11	es.scribd.com	<1%
----	--	-----

Fuente de Internet

12	qdoc.tips	<1%
----	--	-----

Fuente de Internet

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 30 words

Excluir bibliografía

Activo