

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS:

**Cuantificación del contenido de fenoles, flavonoides y alcaloides
totales en extracto etanólico de *Argemone mexicana* L. “cardo santo”,
Ayacucho - 2024**

Para optar el título profesional de:
BIÓLOGA, ESPECIALIDAD: MICROBIOLOGÍA

PRESENTADO POR:
Bach. Jeniffer Regina ROMANI GARCIA

ASESOR:
Dr. Raúl Antonio MAMANI AYCACHI

AYACUCHO - PERÚ

2025

A mis padres y hermanos por brindarme su apoyo constante a lo largo de mi formación profesional y a todas las personas que me brindaron su apoyo incondicional en el desarrollo de la presente tesis.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, mi *alma mater*, por brindarme la oportunidad de enriquecer mis conocimientos, otorgándome las herramientas necesarias para desenvolverme en mi proceso de aprendizaje, formándome tanto profesional y socialmente.

A la Facultad y Escuela Profesional de Biología, por otorgarme su excelente plana de docentes, quienes lograron guiarme en cada proceso, en base a sus conocimientos en valores y ética profesional.

Al Dr. Raúl Antonio Mamani Aycachi, quien desempeñó el papel de asesor, que, con su sabiduría, paciencia incomparable y entera dedicación en cada paso, brindó las herramientas necesarias en la elaboración y finalización de la presente tesis

A mis sinodales Dr. Jesús Javier Ñaccha Urbano, Mg. Jime Jack Rivera Villar, Mg. Roxana Karen Carhuaz Condori, por brindarme su tiempo, apoyo constante en la revisión, corrección y mejora de este trabajo.

A la Blga. Luzía Ventura Cavero, por su apoyo y dirección en la culminación de este trabajo de investigación.

A Victoria Rodríguez Gómez y Axcel Casas Bullón, por ser parte fundamental en el desarrollo y finalización de este gran proyecto.

INDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
INDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	x
I. INTRODUCCIÓN	12
II. MARCO TEÓRICO	15
2.1. Antecedentes	15
2.1.1. A nivel internacional	15
2.1.2. A nivel nacional	17
2.1.3. A nivel regional	17
2.2. Marco conceptual	18
2.2.1. <i>Argemone mexicana</i> L. “cardosanto”	18
2.2.2. Tamizaje fitoquímico	21
2.2.3. Compuestos fenólicos	23
2.2.4. Alcaloides	25
2.2.5. Espectrofotometría	27
2.2.5.1. Fundamento	27

2.3.4.2	Instrumento de medición	27
2.3.4.3	Transmitancia y absorbancia	27
2.3.4.4	Curvas de calibración	28
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	29
3.1.	Ubicación de la zona de estudio	29
3.2.	Población	29
3.3.	Muestra	29
3.4.	Metodología y recolección de datos	29
3.4.1.	Obtención e identificación botánica de la muestra	29
3.4.2.	Obtención de los metabolitos de estudio	30
3.4.3.	Tamizaje fitoquímico	30
3.4.4.	Determinación de fenoles, flavonoides y alcaloides	33
IV.	RESULTADOS	36
V.	DISCUSIÓN	42
VI.	CONCLUSIONES	46
VII.	RECOMENDACIONES	47
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
	ANEXOS	52

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Análisis de tamizaje fitoquímico en hojas, raíces, tallos y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. “cardosanto”, Ayacucho-2024.	37

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Fotografía de <i>Argemone mexicana</i> L. “cardo santo” en la ciudad universitaria UNSCH.	18
Figura 2. Estructura del ácido gálico.	24
Figura 3. Origen biosintético del esqueleto de los flavonoides.	25
Figura 4. Compuestos nitrogenados.	26
Figura 5. Concentración de fenoles en hojas, raíces, tallos y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. “cardosanto”, Ayacucho-2024.	38
Figura 6. Concentración de flavonoides en hojas, raíces, tallos y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. “cardosanto”, Ayacucho -2024.	39
Figura 7. Concentración de alcaloides en hojas, raíces, tallos y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. “cardosanto”, Ayacucho -2024.	40
Figura 8. Comparativa de concentración de fenoles, flavonoides y alcaloides en hojas, raíces, tallos y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. “cardosanto”, Ayacucho -2024.	41

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Selección y colecta de muestra de <i>Argemone mexicana</i> L “cardo santo”.	53
Anexo 2. Flujograma de procesos para la obtención de metabolitos de <i>Argemone mexicana</i> L.	54
Anexo 3. Flujograma de remoción de clorofilas	55
Anexo 4. Esquema para la determinación de fenoles	56
Anexo 5. Esquema para la determinación de flavonoides	57
Anexo 6. Esquema para la determinación de alcaloides.	58
Anexo 7. Curvas de calibración de fenoles, flavonoides y alcaloides presentes en el extracto etanólico de <i>Argemone mexicana</i> L.	59
Anexo 8. Curva de calibración corregida por el método de mínimos cuadrados para fenoles	60
Anexo 9. Curva de calibración para flavonoides corregida por el método de mínimos cuadrados	61
Anexo 10. Curva de calibración corregida por el método de mínimos cuadrados para alcaloides	62
Anexo 11. Tabla del contenido de fenoles en raíces, tallos, hojas y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. “cardosanto”, Ayacucho-2024.	63
Anexo 12. Tabla del contenido de flavonoides en raíces, tallos, hojas y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. “cardosanto”, Ayacucho-2024.	64

Anexo 13.	Tabla del contenido de alcaloides en raíces, tallos, hojas y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. “cardosanto”, Ayacucho-2024.	65
Anexo 14.	Datos del contenido de sólidos totales de los extractos etanólicos de raíces, tallos, hojas y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. “cardosanto”, Ayacucho-2024.	66
Anexo 15.	Datos de la densidad de los extractos etanólicos de raíces, tallos, hojas y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. “cardosanto”, Ayacucho-2024.	67
Anexo 16.	Análisis estadístico	68
Anexo 17.	Matriz de consistencia	74

RESUMEN

Argemone mexicana L. “cardo santo”, es una planta herbácea perteneciente al género *Argemone* la cual se caracteriza por su alto contenido en metabolitos secundarios cuyas sustancias poseen propiedades antifúngicas, antimicrobianas, herbicidas y farmacéuticas, las cuales fueron usadas en la medicina tradicional a lo largo del tiempo. Estas propiedades son atribuidas principalmente al grupo de fenoles, flavonoides y alcaloides; a partir del cual actualmente se busca sintetizar fitocomponentes para la elaboración de tratamientos alternativos frente al uso de antibióticos. Dentro de este marco, el presente trabajo de investigación tiene como objetivo principal, determinar la concentración de fenoles, flavonoides y alcaloides en extracto etanólico de *A. mexicana* L. Con ese propósito, se empleó la metodología de Miranda & Cuellar (2016). Por lo que, la muestra fue sometida previamente a un análisis fitoquímico utilizando los extractos etanólicos extraídos a partir de las raíces, tallos, hojas y flores *A. mexicana* L., en la que se evidenció la presencia de estos metabolitos (fenoles, flavonoides y alcaloides), además de otros metabolitos secundarios. Para el análisis cuantitativo se empleó la metodología de Folin-Ciocalteu (fenoles), Kostennikova Z. (flavonoides) y Shamsa, et al. (2008) (alcaloides), se midieron mediante la utilización de un espectrofotómetro. Los resultados expresaron cantidades abundante de fenoles totales con respecto a los demás metabolitos analizados, siendo así que, la cantidad encontrada de fenoles fue 23,4 mg GAE /L en raíces; 29,2 mg GAE /L en tallos; 24,0 mg GAE / L en hojas y 1,34 mg GAE /L en flores. Para flavonoides 8,54 mg EQ/L en raíces; 0,85 mg EQ/L en tallos; 0,9 mg EQ/L en hojas y 2,0 mg EQ/L en flores. Por último, para alcaloides 2,93 mg ECCN/L en raíces; 3,58 mg ECCN/L en tallos; 0,84 mg ECCN/L en hojas y 6,04 mg ECCN/L en flores. En

conclusión, el tallo presenta la mayor cantidad de fenoles totales con una media de 29,2 mg GAE /L; la raíz, con el mayor valor para la concentración de flavonoides, con 8,5 mg EQ /L. y por último las flores con 6,04 mg ECCN/L representan la mayor cantidad de alcaloides.

Palabras claves: *Argemone mexicana* L., fenoles, flavonoides, alcaloides

I. INTRODUCCIÓN

La especie *Argemone mexicana* L. “cardo santo”, fue usada ampliamente en la medicina tradicional a nivel mundial, utilizada eficazmente para la aplicación en tratamientos de enfermedades como son: tumores, verrugas , enfermedades de la piel, inflamación, reumatismo , ictericia, lepra, infecciones microbianas, antifúngicas y antihelmínticas (Brahmachari et al., 2013); propiedades atribuidas a compuestos fenólicos y nitrogenados. Como se menciona en el estudio de farmacología inversa realizado por Simoes-Pires et al. (2014). El cual basándose en el conocimiento tradicional prescrita por el curandero local en Missidougou (Mali) para el tratamiento de malaria, en el que se demostró altas cantidades de metabolitos secundarios, entre ellos alcaloides de tipo alocriptopina, protopina y berberina, su posible utilización como marcadores fitoquímicos empleados en el control de calidad y estandarización ideales para el desarrollo alternativo de un fitomedicamento.

Actualmente se buscan nuevas alternativas para el tratamiento de diversas enfermedades, es así como la cuantificación del contenido de compuestos fenólicos y alcaloideos nos permiten evaluar el potencial terapéutico de las plantas a partir de la identificación de moléculas de interés farmacológico (More et al., 2017). De manera que se contribuya a la preservación de plantas consideradas “malezas” debido a su desconocimiento a falta de estudio de sus componentes bioquímicos (Arones, 2022).

A raíz de ello, se conoce que a través de la extracción de metabolitos de *Argemone mexicana* L. a partir de extractos etanólicos y acuosos, se obtienen metabolitos con potencial antimicrobiano, antiinflamatorio, anticancerígeno y antioxidante (Enciso, 2017), a su vez se ha demostrado que presenta efectos antagonistas frente a la germinación de hongos fitopatógenos como *Bipolaris* sp., *Fusarium* sp. y *Curvularia* sp. (Singh et al., 2010), con la capacidad de inhibir por completo su crecimiento y proliferación (Yaulema et al., 2023). Si bien estos compuestos son evaluados como tratamientos alternativos frente a diversas enfermedades, cabe resaltar que Brahmachari et al. (2013) advierten sus efectos adversos como la inhibición de la espermatogénesis y actividad citotóxica en seres vivos por acción de alcaloides como la protopina y la N-demethyloxysanguinarina presentes principalmente en el látex de la planta, si son administrados por periodos prolongados a concentraciones mayores a 30mg/kg.

Por ello, el objetivo principal de esta investigación es determinar la concentración de fenoles, flavonoides y alcaloides totales en extracto etanólico de *Argemone mexicana* L. “cardo santo”, mediante métodos cualitativos y cuantitativos, para determinar si la planta posee concentraciones considerables para la síntesis de nuevos compuestos bioactivos. Con esta finalidad se realizó la extracción de metabolitos a partir de la preparación de extractos etanólicos y remoción de clorofilas. Para posteriormente pasar por un proceso de tamizaje fitoquímico planteado por Miranda & Cuellar (2016) cuyo método colorimétrico basado en una serie de ensayos, permitió identificar los compuestos de interés de manera cualitativa. Finalmente, basado en este antecedente se procedió con las pruebas cualitativas para la determinación de alcaloides, fenoles y flavonoides totales por los métodos propuestos por Shamsa et al. (2008), Folin-Ciocalteu y Kostennikova Z. respectivamente, métodos cuyo principio se basa en la reacción cromófora producida al contacto entre el metabolito de análisis y los reactivos. Para la obtención de resultados se obtendrán las absorbancias tanto de la muestra como de las respectivas curvas de calibración empleando espectrofotometría, para determinar las concentraciones finales para cada metabolito se emplearon fórmulas matemáticas descritas por cada metodología.

Objetivo general:

Determinar la concentración de fenoles, flavonoides y alcaloides totales en extracto etanólico de *Argemone mexicana* L. "cardo santo", Ayacucho-2024.

Objetivos específicos:

1. Realizar el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de raíces, tallos, hojas y flores de *Argemone mexicana* L. "cardo santo".
2. Cuantificar el contenido de fenoles totales en raíces, tallos, hojas y flores de *Argemone mexicana* L. "cardo santo".
3. Cuantificar el contenido de flavonoides totales en raíces, tallos, hojas y flores de *Argemone mexicana* L. "cardo santo".
4. Cuantificar el contenido de alcaloides totales en raíces, tallos, hojas y flores de *Argemone mexicana* L. "cardo santo".
5. Identificar que parte de la planta presenta mayor concentración de fenoles, flavonoides y alcaloides totales en el extracto etanólico de *Argemone mexicana* L. "cardo santo".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. A nivel internacional

Mansoor & Ali (2022) realizaron la caracterización fitoquímica de las hojas de *Argemone mexicana*. provenientes de la India, para lo cual se empleó el método de extracción tipo Soxhlet y espectrofotometría, en el cual evidenciaron resultados en base a la extracción de los componentes a partir de los extractos etanólicos en el que se encontró mayor cantidad de fenoles totales con una concentración de (489,45 mg/100g) y flavonoides (3422,12 mg/100g). quienes concluyeron que dicho extracto debido a su contenido alto en compuestos fenólicos posee propiedades antioxidantes considerablemente significativas.

Simoes et al. (2014) realizó un estudio de farmacología inversa basado en la medicina tradicional para el tratamiento de paludismo utilizando la decocción de *Argemone mexicana* aplicada como tratamiento curativo en Mali (preparación tradicional prescrita por el curandero local de Missidougou), cuya eficacia clínica se asemeja al tratamiento con fármacos como la artesunato-amodiaquina. Dado esto se realizó un estudio clínico observacional en el que se contó con 301 pacientes separados en dos grupos de acuerdo al tratamiento recibido, en el cual se evidencio que el 89% de los pacientes del grupo *A. mexicana* y el 95% que recibieron tratamiento con artesunato-amodiaquina no requirieron tratamiento secundario. Dentro del estudio se aislaron berberina, alocriptopina y protopina , alcaloides que demostraron propiedades antiparasitarias in vitro, presentando estas dos últimas actividad antiparasitaria específicas para el agente causal de la enfermedad; sin embargo, la berberina posee mayor actividad citotóxica.

Loza et al. (2021) señaló que durante la germinación de la especie *Argemone mexicana* L., se observaron grandes cantidades de acumulaciones de alcaloides, sobre los que resalta la sanguinarina. Estos alcaloides fueron encontrados en mayores porcentajes en las cubiertas del pericarpio correspondiente a un 60-65% a diferencia de las demás estructuras de la plántula. Además, se observó la presencia de berberina en semillas inmaduras y en plántulas en desarrollo con los cotiledones desplegados. Dentro de los hallazgos en se menciona la intervención de la berberina, sobre todo en plantas jóvenes o en desarrollo posterior a la germinación del brote, por lo cual se considera, que cumple con un papel protector o de defensa en este periodo.

En otro estudio se examinó extractos metanólicos de tallos y hojas de *Argemone mexicana* para su efectividad contra la tricomoniasis. El análisis reveló una variedad de compuestos bioactivos, incluyendo berberina, mediante HPLC-DAD. Los rendimientos de las extracciones basadas en maceración fueron de 10 % y 12,7 % para los tallos y hojas secas, respectivamente. Los resultados del análisis fitoquímico básico de los extractos crudos. Se detectaron insaturados, quinonas, esteroides, triterpenos, saponinas, flavonoides, carbohidratos y alcaloides (Elizondo et al, 2020).

Khan & Bhadauria (2019) realizó un estudio basado en la importancia medicinal de *Argemone mexicana* a partir del análisis de sus componentes fitoquímicos, sometidos a métodos preliminares, técnicas de espectrofotometría y metodologías estandarizadas como Folin-Ciocalteu (fenoles), colorimetría de aluminio (flavonoides) y espectroscopia de masas GC-MS. El cual reporta en sus resultados que el mayor contenido de fenoles totales fue encontrado en los tallos con un valor de 28,5 +/- 1,15 mg GAE/g de extracto vegetal, por otro lado, expresa que el mayor contenido de flavonoides totales fue encontrado en las flores con una estimación de 41,76 +/- 0,74 mg QE/g, asumiendo que los responsables principales de la actividad biológica de *Argemone mexicana* se atribuyen a los flavonoides, debido a la relación de proporción entre fenoles y flavonoides.

De Jesús (2019), reporta para la cuantificación de fenoles totales la cantidad de 20,11 mg GAE/g de muestra, resaltando que el extracto isopropanólico de *A. mexicana* registra el mayor valor frente a otro tipo de extractos utilizados para la extracción de metabolitos secundarios. Menciona que el contenido de estos se

puede ver afectado dependiendo del solvente utilizado, en este marco, se atribuye a la concentración de estos polifenoles las propiedades terapéuticas de la planta y su amplio uso en la herbolaria mexicana. Así mismo se reportaron 234 mg Eq Catequina/g por muestra de taninos, y 388,3 mg Eq Rutina/g muestra de flavonoides.

2.1.2. A nivel nacional

Jurado Anicama (2024) Identificó los compuestos metabólicos presentes en *A. mexicana* mediante el método de Screening fitoquímico, cuya muestra proveniente de la provincia Víctor fajardo, departamento de Ayacucho evidenció la presencia de fenoles, flavonoides y alcaloides, resaltando propiedades de importancia clínica significativas. Concluyeron que el extracto etanólico de *A. mexicana* no mostró toxicidad a dosis de 2000 mg/Kg, además presenta propiedades antiinflamatorias a dosis de 750 mg/Kg en comparación al diclofenaco en una proporción de 76,49% / 82,43% y analgésicas a dosis de 500 mg/Kg frente a ácido acetilsalicílico (aspirina).

2.1.3. A nivel regional

Montes (2017) realizó un estudio fitoquímico del látex de *A. mexicana* con la finalidad de identificar los metabolitos secundarios presentes en la planta para evaluar su genotoxicidad, para ello utilizaron la metodología propuesta por Miranda & Cuellar (2016) en la que se reportan presencia de alcaloides, fenoles y taninos en cantidades abundantes (+++), seguidamente se hizo una estimación de genotoxicidad “*in vitro*” mediante electroforesis en gel de agarosa, en el cual se determinó que la planta posee efecto genotóxico en el ADN genómico humano, siempre en cuando sean expuestos al látex de *A. mexicana* en concentraciones que van a partir del 10 al 100 %.

Por otro lado, Carbajal (2024) realizó la determinación de flavonoides en *A. mexicana* L., mediante la metodología de Kostennikova Z, expresando valores para flavonoides totales de 6,61 µg QE/ml en hojas y 8,22 µg QE/ml en flores. A su vez concluye que *Argemone mexicana* L., representa una fuente principal de flavonoides, hierro y calcio, las cuales resaltan su potencial terapéutico y avalan su uso tradicional en la región de Ayacucho, haciendo énfasis en que se necesitan realizar más estudios sobre esta planta.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. *Argemone mexicana* L. “cardo santo”

A) Descripción Botánica

Argemone mexicana es una especie herbácea de crecimiento anual originaria de climas tropicales y subtropicales, erguida que alcanza una altura de aproximadamente 60cm a un 1m. Posee tallos cilíndricos, espinosos y ramificados, que contienen savia lechosa de color amarillo intenso en floración reciente y amarillo opaco en floración caduca, con hojas simples que presentan nerviación pinnatipartida, con disposición alterna referente al tallo, de coloración verde-azuladas con bordes incisos (CONABIO, 2016).

Las flores son generalmente terminales, solitarias, bisexuales y actinomorfas, con un cáliz que consta de tres sépalos caducifolios que sostiene una corola doble formada por 6 pétalos amarillos que también son caducos. Numerosos estambres libres con anteras bilobulares dehiscentes dispuestos de manera longitudinal. Gineceo con ovario supero, bicarpelar y unilocular, con abundantes óvulos (Martínez, 2016).

El fruto se encuentra dispuesto en una cápsula, alargada, espinosa, que mide alrededor de 2 a 5 cm de largo y 2 cm de ancho, con 6 válvulas verticales que se abren en el ápice para la liberación de sus semillas, poseen una raíz de tipo pivotante ramificada (Ochoa et al., 2024).



Figura 1. Fotografía de *Argemone mexicana* L. “cardo santo” en la ciudad universitaria UNSCH (Imagen propia).

B) Distribución y hábitat

El género *Argemone* (Papaveraceae) está compuesta por aproximadamente 60 especies, entre las cuales 28 son nativas del continente americano. En América del Sur se han identificado al menos cinco taxones del *A. mexicana*, en Chile, Argentina, Uruguay, Paraguay, Bolivia y Panamá. *A. mexicana* posee una distribución que abarca desde las zonas costeras del sureste de EE. UU. hasta Texas, así como en regiones desérticas, norte California y el sureste de Oregón. *A. mexicana* está presente en todo México y en Centro América, excepto en montañas muy altas (Ochoa et al., 2024). Las plantas del género se encuentran distribuidas principalmente en los estados del norte de México, en regiones con escasas precipitaciones y en zonas cercanas al nivel del mar o incluso hasta 2.400 msnm (rara vez en zonas de mayor altitud), con lluvias moderadamente fuertes, en suelos con baja capacidad de retención de agua. Se encuentran en regiones de climas templados de Latinoamérica y la India, ocupando grandes extensiones de terreno de cultivo ya que son de crecimiento espontáneo, considerados “maleza”, mismos que son retirados para la siembra. Se encuentran en territorio peruano, estableciéndose en las regiones interandinas. Por lo que su crecimiento está determinado a la época de lluvia, que es propicio para su crecimiento, desarrollo y proliferación (Ochoa et al., 2024), (Martínez, 2016).

C) Clasificación sistemática de *Argemone mexicana* L. “cardo santo”

La especie fue identificada previamente por Carbajal (2024), mediante determinación molecular a través de una muestra enviada al herbario de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

REINO: Plantae

FILO: Tracheophyta

CLASE: Magnoliopsida

ORDEN: Ranunculales

FAMILIA: PAPAVERACEAE

GÉNERO: *Argemone*

ESPECIE: *Argemone mexicana* L.

Fuente: Global Biodiversity Information Facility (GBIF 2024)

D) Composición química y principios bioactivos

Argemone mexicana es una fuente diversa de constituyentes químicos, aunque los alcaloides son en su mayoría abundantes. Otros son terpenoides, flavonoides, fenólicos, compuestos alifáticos de cadena larga y algunos compuestos aromáticos (Pathak et al., 2021). Se identificaron alcaloides con capacidad de controlar afecciones en la salud como la berberina y protopina principalmente. Los cuales pertenecen de acuerdo a su estructura a los alcaloides isoquinolinicos, que se dividen en aproximadamente 20 categorías, que agrupan las protoberberinas, las benzofenantridinas, las protopinas, de tipo pavina la allocriptopina, argemonina, cheleritina, codeína, coptisina, dihidrocheleritina, morfina, norargemonina, romneina, y sanginarina (Martínez, 2016). Además, se menciona que posee componentes como los aminoácidos, ácidos grasos, compuestos fenólicos, etc. (Enciso & Elizabett, 2017)

E) Usos tradicionales

En la medicina tradicional *Argemone mexicana* resalta su potencial para el tratamiento de numerosas enfermedades, dado que varias partes de la planta tienen potente actividad antiemética, actividad narcótica (Enciso & Elizabett, 2017). Así mismo tradicionalmente ha sido usada como tratamiento alternativo para la sífilis y enfermedades cutáneas. De esta manera: las semillas son usadas contra enfermedades pulmonares y gastrointestinales por su característica expectorante y laxantes (Soto et al., 2022). Esta especie fue estudiada desde 1860 de acuerdo a la literatura. En la que destaca su uso por su actividad hepatoprotectora, antimicrobiana, antiasmática, citotóxica y antiinflamatoria para curar enfermedades de la piel, contra la malaria, la diabetes, cáncer; además de su actividad cicatrizante, antipirética y anti – VIH. (Pathak et al., 2021)

A partir de la elaboración de extractos lechosos de esta semilla se fabrican antídotos para picaduras de diversas especies de arácnidos y serpientes, puesto que presentan sustancias capaces de disolver dichas proteínas, ya que en su composición presentan metabolitos como polifenoles, taninos, saponinas, flavonoides, alcaloides, etc. Estas sustancias a su vez actúan como tratamiento para las verrugas, lepra, herpes labial, ictericia, la fiebre palúdica y ayudan en la cicatrización de heridas (Khan & Bhadauria, 2019).

Así mismo la raíz, se usa como tratamiento antihelmíntico, las hojas y flores para curar la diabetes, tos, heridas, úlceras, verrugas, herpes labial, afecciones

cutáneas y enfermedades de la piel, aumentando su eficacia al ser combinada con productos como la pimienta negra (Ji et al., 2011). A su vez se realiza un procedimiento de decocción de hojas para el tratamiento de la fiebre palúdica, dolores de estómago, dolor muscular y úlceras. Dado que el extracto acuoso de hojas posee actividad antiinflamatoria (Soto et al., 2022; Enciso & Elizabett, 2017).

El látex fresco o fomentos del cocimiento de la corteza es utilizado para curar afecciones en los ojos, como dolor, escozor, manchas e inflamación; aunque principalmente se usa en las cataratas, aplicándolo por 5 a 6 días (Martínez, 2016).

2.2.2. Tamizaje fitoquímico

a) Glucósidos cardiotónicos

Uno de los compuestos que se utilizan para tratar enfermedades cardiovasculares son los llamados glucósidos cardiotónicos, el cual presenta propiedades como el incremento en cuanto a la velocidad y fuerza cardíaca con menos latidos, ideales para pacientes con insuficiencia cardíaca o cardiomiopatía (Sánchez & García, 2022).

b) Cumarinas

Dentro de los metabolitos secundarios se resalta la importancia de las cumarinas, puesto que actúan como mecanismo de defensa en diversas especies de plantas, además de presentar propiedades farmacológicas vasculares y cardíacas actuando como anticoagulantes (Sánchez & García, 2022).

c) Flavonoides

Las plantas poseen pigmentos fotosintéticos encargados de aportar el color tanto a sus hojas y flores, los flavonoides además de ser un pigmento, cumple la función de proteger contra daños adversos actuando como moléculas señalizadoras frente a agentes ambientales, físicos y químicos. (Sánchez & García, 2022), (Angaspilco & Cárdenas, 2017).

d) Resinas

Las coníferas tienen la particularidad de segregar resinas como medio de protección frente a insectos y patógenos a modo de revestimiento natural. Este compuesto orgánico además es utilizado por los humanos por su acción antimicrobiana y antibacteriana (Sánchez & García, 2022), (Morales et al., 2021).

e) Saponinas

Las saponinas son compuestos metabólicos secundarios que se caracterizan por presentar un radical glucósido, cuya principal función en las plantas es proteger frente a patógenos y herbívoros, resaltando a su vez su uso industrial y farmacológico, como agente estabilizante, detergente natural, emulsificador de productos de limpieza y expectorantes (Sánchez & García, 2022; Ahumada et al., 2016).

f) Catequinas

Dentro de la familia de los flavonoides encontramos a las catequinas, metabolitos secundarios que debido a su actividad antioxidante son empleadas en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y cancerígenas, puesto que actúan directamente sobre los radicales libres (Sánchez & García, 2022; Lujano et al., 2019).

g) Aminoácidos y aminas

Una de las moléculas indispensables para el metabolismo de los seres vivos son los aminoácidos ya que están compuestas por un grupo carboxilo y un grupo amino, el cual tiene la función estructural para la formación de proteínas esenciales para el desarrollo de todo organismo (Sánchez & García, 2022), (Guerrero, 2014). Las aminas proceden de dos orígenes, estas pueden ser formadas a partir de la descarboxilación de los aminoácidos o producto de la transaminación de los aldehídos correspondientes. Se dividen principalmente en: monoaminas, poliaminas alifáticas y aminas aromáticas. Así mismo la noradrenalina y la serotonina que se extrae de las plantas, quienes propician su floración, actúan como neurotransmisores en los mamíferos, de manera que regula el estado de ánimo, aumenta el ritmo cardíaco, controla la presión, el sueño y la ansiedad (Sánchez & García, 2022).

h) Azúcares reductores

Los azúcares reductores son metabolitos que poseen un grupo de cetona libre o libre de aldehído; en personas sanas, su concentración en la sangre es sujeta a mecanismos de regulación cuidadosos, mientras que en personas diabéticas, aumenta significativamente (Sánchez & García, 2022), (Guerrero, 2014).

i) Antraquinonas

Las antraquinonas tienen la capacidad de actuar sobre las terminaciones nerviosas del intestino, controlando así las actividades metabólicas, ya que son

compuestos orgánicos que actúan como laxantes naturales, de esta manera atenúan los problemas causados por el estreñimiento (Sánchez & García, 2022), (Casaverde, 2020)

2.2.3. Compuestos fenólicos

Se comprende como compuestos fenólicos a las sustancias que presentan uno o más grupos hidroxilo en un anillo aromático. Siendo estos fitoquímicos de mayor producción en las plantas. Estos metabolitos secundarios poseen grupos hidroxilo unidos al anillo aromático, los cuales dan origen a una gran diversidad de compuestos, que incluyen a los fenoles simples, como: los ácidos fenólicos, benzoicos y cinámicos; fenilpropanoides; flavonoides; cumarinas; cromonas; quinonas; pterocarpanos; naftoquinonas; xantonas; lignanos, ligninas y taninos (Sánchez & García, 2022).

La biosíntesis de los compuestos fenólicos comprende dos rutas metabólicas: la del ácido shikímico y la del ácido malónico. Los principales compuestos sintetizados a partir de la L-fenilalanina y la L-tirosina son los ácidos cinámicos y sus ésteres, cumarinas, fenilpropanos, cromonas, estilbenos, antraquinonas, chalconas, flavonoides, isoflavonoides, neoflavonoides y sus dímeros y trímeros respectivamente, lignanos, neolignanos, lignina. Los ácidos hidroxibenzoicos y los aldehídos aromáticos que se obtienen por la vía del shikimato (Santos-Sánchez, 2019).

De acuerdo a su tipo de estructura se diferencian a los ácidos fenólicos por estar conformados únicamente por un anillo fenólico, dentro de los cuales se tiene: ácidos fenólicos, benzoicos y cinámicos; a diferencia de los flavonoides que se caracterizan por poseer en su estructura dos a más anillos aromáticos que se unen mediante cadenas de carbono, entre los cuales tenemos: flavonoles, antocianos, flavanonas, flavonas y otros. (Sánchez & García, 2022)

2.2.3.1. Fenoles

Los fenoles son metabolitos secundarios que presentan un solo anillo de benceno, que están unidos a grupos carboxilo y uno o más grupos hidroxilo en su composición, que le otorga propiedades antioxidantes a los alimentos y para el cuerpo humano, de esta manera se utilizan para tratamientos preventivos frente a diversas enfermedades, como el cáncer. La mayoría de los fenoles simples son

los monómeros de los distintos tipos de los polifenoles, que a su vez forman los tejidos de las plantas incluyendo a la lignina y la melanina. Esto incluye a los ácidos p-hidroxibenzoico, protocatecuico, vainílico, siríngico, salicílico y gálico, que pueden obtenerse por hidrólisis ácida de estos tejidos. A diferencia de los fenoles libres que no requieren degradación de polímeros, más aún no es frecuente encontrarlos en las plantas (Sánchez & García, 2022).

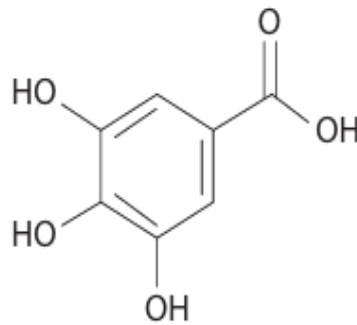


Figura 2. Estructura del ácido gálico (Sánchez & García, 2022).

2.2.3.2. Flavonoides

En las plantas encontramos diferentes tipos de metabolitos secundarios, siendo así los flavonoides y flavonas, los cuales actúan como protectores de rayos UV en las plantas, con un rango de absorción del 280- 400 nm. Por lo que un aumento de radiación ultravioleta propicia una elevada cantidad de producción de flavonoides (Sánchez & García, 2022).

Además, cuentan con mecanismo capaces de brindar protección contra la sequía, salinidad, patógenos y herbívoros. Así mismo promueven la inserción de las raíces por bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos micorrícicos. Actúan además como fitoalexinas contra ataques fúngicos o bacterianos. Poseen pigmentos que aportan los colores característicos de las hojas y frutos, como los antocianos que confieren el color rojo, naranja, azul, púrpura o violeta en las frutas y hortalizas). Cuando los fenoles se oxidan, dan lugar a las quinonas que dan un color pardo (Sánchez & García, 2022).

Por otro lado, los flavonoides poseen efectos terapéuticos en cardiopatías, enfermedades estomacales, aterosclerosis, diabetes y el cáncer. Ya que se les confiere propiedades antimicrobianas y antifúngicas (Sánchez & García, 2022).

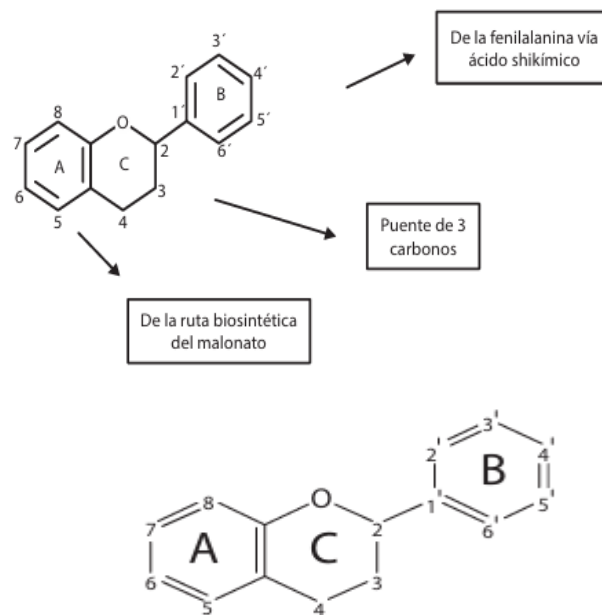


Figura 3. Origen biosintético del esqueleto de los flavonoides (Sánchez & García, 2022).

Estos compuestos fenólicos se sintetizan biológicamente a partir de la fenilalanina por la vía del ácido Shikímico. Se cicla a través de una enzima isomerasa a su estructura base, están localizados generalmente en las zonas apicales de las plantas. Aunque su distribución cuantitativa varía entre diferentes órganos y en diferentes poblaciones de una misma especie, debido a la regulación de la expresión genética y acción de características ambientales como clima, altitud, nutrición y prácticas agrícolas. Estos compuestos fenólicos comparten una estructura general de difenilpirano C₆-C₃-C₆, la cual está formada por dos anillos de benceno (A y B) unidos a través de un anillo (C) de pirano que puede incluir un grupo carbonilo en la cuarta posición para formar el anillo de pirona (Sánchez & García, 2022).

2.2.4. Alcaloides

Los alcaloides son compuestos básicos porque contienen nitrógeno con frecuencia formando heterociclos, de carácter alcalino, se protonan en el átomo de nitrógeno bajo condiciones de pH citosólico o vacuolar, lo que les confiere una carga positiva. Esto les permite formar sales hidrosolubles como los citratos y tartratos. Con su bajo peso molecular, los alcaloides han jugado un papel crucial

en la historia humana, gracias a la diversidad de sus efectos en la fisiología animal y sus beneficios como antibióticos (Allegretti et al., 2022), (Sánchez & García, 2022).

Los alcaloides constituyen un grupo diverso que ejerce una fuerte actividad biológica tanto en seres humanos como en animales. Algunos de estos compuestos son muy tóxicos incluso en dosis reducidas y se encuentran mayormente en vegetales. Contiene metabolitos secundarios que se encuentran aproximadamente en el 20 % de las especies de plantas y su función principal es proteger a las plantas de herbívoros y enfermedades (Guerrero, 2012). Debido a sus propiedades biológicas, su estudio es crucial por su valor científico y económico, ya que sirven como base para desarrollar nuevos tratamientos. Los alcaloides varían entre individuos, pero son distintivos en cada especie, siendo esenciales para su supervivencia y funcionamiento; se pueden categorizar por las vías biosintéticas de las plantas donde se forman, y también por otros criterios como su función biológica, su conformación química (basada en el tipo de nitrógeno, sea heterocíclico o no, y la forma del anillo) y su clasificación taxonómica (Sánchez & García 2022). En términos de su estructura química, existen dos grupos principales:

1. Los alcaloides no tóxicos o no heterocíclicos, conocidos como protoalcaloides o aminas biogénicas.
2. Los alcaloides heterocíclicos, que se diferencian más detalladamente por la estructura específica de sus anillos.

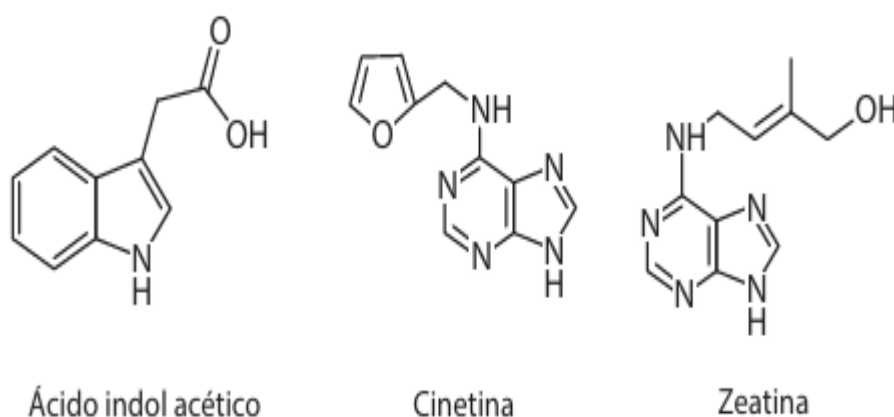


Figura 4. Compuestos nitrogenados (Sánchez & García, 2022).

2.2.5. Espectrofotometría

2.2.5.1. Fundamento

Dentro de las últimas técnicas de medición se cuenta con la espectrofotometría, esta técnica utiliza un equipo llamado espectrofotómetro que proyecta una luz a través de una solución a una determinada longitud de onda, que permitirá medir la cantidad de luz que se absorbe por las moléculas encontradas en dicha solución (absorbancia), a su vez la cantidad de luz que atraviesa la misma (transmitancia), para la cuantificación de la concentración de compuestos específicos en una muestra (García, 2018).

2.3.4.2 Instrumento de medición

Cada espectrofotómetro independiente del diseño y si estos son incorporados con programas de análisis de datos, cuentan con los siguientes componentes (García, 2018), (Díaz et al., 2000):

1. Fuente de luz: debe contar con lámpara de deuterio (190 a 380 nm) y tungsteno (380 a 800 nanómetros nm), la cual deberá proporcionar correctas y constantes intensidades de longitud de onda.
2. Lente: concentrará la luz en un solo haz (enfoque)
3. Monocromador: se encargará de seleccionar las radiaciones de acuerdo a la longitud de onda a emplear, dependiendo al tipo de análisis se empleará difractores, prismas o filtros.
4. Pocillos: En los que se insertarán las cubetas con la muestra para análisis, el material de estos pueden ser vidrio, plástico o cuarzo. En caso de utilizarse ensayos con radiación UV estos deberán ser de sílice fundido o cuarzo, puesto que otros materiales no transmiten dicha radiación.
5. Amplificador capaz de convertir señales luminosas a señales eléctricas acoplado de un detector de luz.
6. Sistema de registro y/o lectura de datos.

2.3.4.3. Transmitancia y absorbancia

Dentro del concepto de espectrofotometría se menciona que, si un rayo de luz de a determinada longitud de onda de intensidad (I_o) incide directamente a un cromóforo, absorberá una parte de la radiación incidente (I_a) y dejará pasar el resto (I_t), de forma que se cumple: $I_o = I_a + I_t$ (García, 2018), (Díaz et al., 2000).

- **Transmitancia (T).** Se define como la cantidad de luz transmitida que llega al detector una vez que ha atravesado la solución (I_t) en relación a la cantidad de luz que incidió sobre ella (I_o), por lo se expresa:

$$\% T = I_t/I_o \times 100.$$

De esta manera se cuenta con una medida física de la relación entre transmitancia y la intensidad que incide un rayo de luz a través de una solución. La relación entre %T y la concentración no es lineal, pero posee relación logarítmica inversa (García, 2018), (Díaz et al., 2000).

- **Absorbancia (A).** se refiere a la cantidad de luz absorbida por un cromóforo en una muestra. se define como el logaritmo de $1/T$, en consecuencia:

$$A = \log 1/T = -\log T = -\log I_t/ I_o.$$

Por ello, dependiendo de la concentración de cierta solución, será la distancia que atraviesa la luz y la cantidad que se absorba por el cromóforo. Cuando la intensidad incidente y transmitida son iguales ($I_o = I_t$), la transmitancia es del 100% e indica que la muestra no absorbe a una determinada longitud de onda, y entonces A vale $\log 1 = 0$. (García, 2018), (Díaz et al., 2000).

2.3.4.4. Curvas de calibración

La obtención de una curva de calibración se realiza mediante la preparación de una serie de soluciones del mismo tipo a diferentes concentraciones, a partir de los cuales se determinará la absorbancia de cada uno a longitud de onda máxima. Se visualizará de este modo un incremento lineal en la medida de absorbancia correspondiente a las diferentes concentraciones. Este dato, nos permitirá calcular el valor del coeficiente de extinción molar, que corresponde a la pendiente de la recta (Díaz et al., 2000).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación de la zona de estudio

La presente investigación se llevó a cabo en Laboratorio de Bioquímica, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, en el departamento de Ayacucho, provincia de Huamanga, ubicada a 2670 m s.n.m.

3.2. Población

Plantas de *Argemone mexicana* L. “cardo santo”, de la ciudad universitaria de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, departamento de Ayacucho, del 2024.

3.3. Muestra

2 kg de raíces, tallos, hojas y flores de *Argemone mexicana* L. “cardo santo”.

3.4. Metodología y recolección de datos

3.4.1. Obtención e identificación botánica de la muestra

a) Obtención de la muestra

- Se recolectó 2kg de cada parte de la planta raíces, tallos, hojas y flores de *Argemone mexicana* L. “cardo santo” respectivamente, de la ciudad universitaria de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, ubicada en la provincia de Huamanga, distrito de Ayacucho del departamento de Ayacucho, a una latitud: 13°08'44,04" S; longitud: 74°13'15,85" O y altitud: 2791 m. s. n. m.

- Se cortaron en trozos de 5cm aproximadamente y se colocó cada parte de la planta en recipientes de plástico con tapa por separado y rotulado correctamente.
- Posteriormente se trasladó a la zona de análisis.

b) Identificación de la muestra

Una vez obtenidas las muestras, se llevaron al área de procesamiento, en la cual se colocaron los ejemplares sobre papel periódico y se procedió a la identificación y comparación bibliográfica mediante las características de la planta, además de corroboración con programas de reconocimiento como inaturalist y base de datos de Global Biodiversity Information Facility (GBIF 2024).

3.4.2. Obtención de los metabolitos de estudio

a) Preparación de la muestra

- Se realizó la desinfección de la muestra con hipoclorito de sodio al 0.05 % y agua potable, y finalmente un lavado con agua destilada para eliminar los residuos que quedaron de hipoclorito de sodio.
- Posterior al lavado se colocó las raíces, tallos, hojas y flores en papel periódico al ambiente en ambiente oscuro y seco por 15 días, para completar el secado se llevó a la estufa a 40°C por 12 horas.
- El residuo del proceso anterior se trituró en un mortero y almacenó en un frasco de vidrio (Chilón & Tingal, 2020).

b) Obtención del extracto etanólico

- La muestra obtenida fue pesada y trasladada a un contenedor de vidrio con capacidad de almacenar 1L en volumen, al cual se añadirá etanol (Químicamente puro) hasta aforar el volumen completo.
- Esta mezcla fue agitada de 5 a 10 minutos diariamente por un periodo de 15 días, seguidamente se realizó un proceso de filtrado (Miranda & Cuellar, 2016) y remoción de clorofilas (Guerrero, 2012).

3.4.3. Tamizaje fitoquímico

Para el análisis fitoquímico se utilizó la metodología descrita por Miranda & Cuellar (2016) la cual basada en una técnica colorimétrica permite determinar metabolitos presentes en una muestra. Por lo anterior una vez realizado el proceso de filtración y remoción de clorofilas, se procedió a identificar los componentes químicos (metabolitos secundarios) presente en la muestra para cada ensayo llevados a

cabo en el Laboratorio de Bioquímica de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

a. Ensayo de cloruro férrico (compuestos fenólicos y/o taninos)

Este procedimiento se realizó para la determinación de compuestos fenólicos, la cual evidenció una coloración rojiza a vino para fenoles y verde para taninos por la actividad del reactivo tricloruro férrico al 5% el cual fue añadido al extracto etanólico en cantidad proporcional a 3 gotas por 2 ml de extracto (Miranda & Cuellar, 2016).

b. Ensayo de Baljet (cumarinas)

Para este procedimiento se utilizó el reactivo de Baljet para la determinación de cumarina, añadiendo 3 gotas a 2 ml de extracto etanólico, cuyo resultado expresa una coloración que va de rojiza oscura, además de un precipitado el cual se reportó como una muestra positiva para la presencia de este metabolito (Miranda & Cuellar, 2016).

c. Ensayo de Kedde (glicósidos cardiotónicos)

Para este ensayo se utilizó 1 ml de reactivo Kedde y 2 ml de extracto etanólico cuya solución se sometió a reposo por 5 a 10 minutos, el resultado expresó una coloración violeta, el cual evidenció la presencia de compuestos glicósidos cardiotónicos (Miranda & Cuellar, 2016).

d. Ensayo de Shinoda (flavonoides)

Para la prueba de presencia de flavonoides se diluyeron 2 ml de extracto etanólico con 1 ml de HCL concentrado y una pequeña porción de una tira de magnesio metálico, se dejó reposar esta mezcla por 5 minutos, pasado ese tiempo se añadió 1ml de pentanol, se mezcló y dejó reposar nuevamente hasta observar una separación, la presencia de flavonoides se identificó por la aparición de una coloración naranja o roja (Miranda & Cuellar, 2016).

e. Ensayo de resinas

La determinación de resinas se realizó añadiendo 10 ml de agua destilada a 2 ml de extracto etanólico, la formación de un precipitado de color lechoso confirmó la presencia de este compuesto (Miranda & Cuellar, 2016).

f. Ensayo del peróxido (saponinas)

Para el examen de determinación de peróxido se le colocaron 3 gotas del extracto etanólico y se adicionó 2 gotas de peróxido de hidrógeno, la solución se calentó

ligeramente agitándola constantemente, la formación de espuma es el indicador de la presencia de saponinas (Miranda & Cuellar, 2016).

g. Ensayo de catequinas

Para la determinación de catequinas se trabajó con una luna de reloj a la cual se le colocó un papel filtro y una gota de extracto etanólico, seguidamente se adicionó carbonato de sodio. Mediante una luz UV se observó el cambio de coloración verde-amarillenta, el cual evidenció la existencia de catequinas en el extracto (Miranda & Cuellar, 2016).

h. Ensayo de la Ninhidrina (aminoácidos y aminos)

Para este ensayo se utilizó 2 ml del reactivo de ninhidrina al 2 % el cual fue mezclado con 2 ml de extracto etanólico, la solución fue llevada a baño María por un intervalo de 5 a 10 minutos, la presencia de aminoácidos y aminos se demostró por el viraje de color azul-violeta (Miranda & Cuellar, 2016).

i. Ensayo Dragendorff (alcaloides)

En este ensayo se utilizó el extracto etanólico preparado, el cual fue sometido a evaporación por baño maría, posteriormente se agregó 1 ml de ácido clorhídrico en concentración de 1 %, a esta mezcla se adicionó 3 gotas de reactivo Dragendorff, para determinar la presencia de este metabolito se expresó desde una ligera opalescencia hasta la formación de precipitado (Miranda & Cuellar, 2016).

j. Ensayo de Benedict (azúcares reductores)

Para esta prueba se llevó a baño maría un tubo de ensayo con 2ml del reactivo Benedict y 2 ml de extracto etanólico por 5 a 10 minutos. La presencia de azúcares reductores se evidenció por la formación de un precipitado rojo (Miranda & Cuellar, 2016).

k. Ensayo de Liebermann-Burchard (Triterpenos).

Se tomo una alícuota del extracto etanólico, del cual se obtuvo un sedimento, y se le añadió 1 ml de cloroformo, a la solución anterior se adicionó 1 ml de anhídrido acético y se mezcló. Con mucho cuidado se colocó 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico por la pared del recipiente de ensayo. Se evidencio la presencia de este compuesto por el viraje de color rosado a azul inicialmente y de verde a negro en la fase final (Miranda & Cuellar, 2016).

3.4.4. Determinación de fenoles, flavonoides y alcaloides

A. Cuantificación de fenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu.

El método de Folin-Ciocalteu es un método colorimétrico ampliamente utilizado para la cuantificación de fenoles totales en extractos de vegetales. El principio del método se basa en la reacción entre los fenoles y el reactivo de Folin-Ciocalteu, que es una solución de ácido fosfowolfrámico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y ácido clorhídrico (HCl).

a) Elaboración de la curva estándar para determinar contenido de fenoles totales

Se preparó un estándar de ácido gálico de 100 mg/L, a partir de los cuales se prepararon diluciones de 1,3, 6, 8, 10, 12, 14 mg/dl. Se agregaron 0,25 ml de Folin Ciocalteu 1N, 1,25 ml de buffer carbonato de sodio 20 %, completadas con agua destilada hasta 10 ml. Se dejó en reposo por 1 hora y finalmente se obtuvo la densidad óptica a 760 nm de longitud de onda.

Con los valores de concentración y densidad óptica se obtuvo el factor de calibración correspondiente.

b) Determinación de la concentración de fenoles totales en la muestra de *Argemone mexicana L.*

Se midió 1 ml del extracto etanólico de *Argemone mexicana L.*, al cual se le agregaron 0,25 ml de Folin Ciocalteu 1N, 125 ml de carbonato de sodio 20 %, completadas con agua destilada hasta 8 ml. Se dejó en reposo por 1 hora y finalmente se obtuvo la densidad óptica a 760 nm de longitud de onda.

Para determinar la cantidad de fenoles totales, se multiplicó el factor de calibración y la absorbancia de la muestra problema (raíz, tallo, hoja y flores).

B. Cuantificación de flavonoides totales por el método de Kostennikova Z.

a) Elaboración de la curva estándar para determinar contenido de flavonoides totales

El método de Kostennikova Z. es un método empleado para la determinación de flavonoides utilizando espectrofotometría UV visible, cuyo principio está basado en la determinación de la estructura de los flavonoides e identificación de los grupos cromóforos. El principio del método se basa en la utilización de la quercetina (reactivo químicamente puro) para cuantificar flavonoides presentes en el extracto etanólico. Para ello se preparó un estándar de quercetina de 270 mg/L, del cual se prepararon soluciones de 100, 175, 350 y 750 ug/ml. En el proceso de

preparación de la solución patrón se utilizó 1 ml de las diversas concentraciones preparadas, luego se agregaron 0,2 ml de acetato de sodio 1M, 0,2 ml de Nitrato de aluminio al 10%, y completó a 10 ml con agua destilada, se homogenizó y se incubó por 40 minutos para finalmente leer la absorbancia a 450 nm de longitud de onda, para cada uno de los estándares.

Con los valores de concentración y absorbancia se obtuvo el respectivo factor de calibración.

b) Determinación de la concentración de flavonoides totales en la muestra de *Argemone mexicana* L.

Se midió 1 ml del extracto etanólico de *Argemone mexicana* L., al cual se le agregaron 0,2 ml de acetato de sodio 1M, 0,2 ml de Nitrato de aluminio al 10% y completó a 10 ml con agua destilada, se homogenizó llevándose a incubación por 40 minutos, seguidamente se determinó la densidad óptica en el espectrofotómetro a 450 nm de longitud de onda.

Para determinar la cantidad de flavonoides totales, se multiplicó el factor de calibración y la absorbancia de la muestra problema (raíz, tallo, hoja y flores).

C. Cuantificación de alcaloides totales por el método de Shamsa, et al. (2008).

a) Elaboración de la curva estándar para determinar el contenido de alcaloides totales

El método se basa en la reacción del verde de bromocresol con los alcaloides, produciendo un compuesto coloreado que se mide espectrofotométricamente. Para ello se disolvieron 10 mg de cinconina en 100 ml de etanol, lográndose preparar soluciones de 10, 20, 50, 100 y 200 ug/dl. En el proceso de preparación de la solución patrón se utilizó 1 ml de las diversas concentraciones preparadas, luego se agregaron 0,01 ml de verde de bromocresol, 0,5 ml de HCl 0,1 N, y completó a 10 ml con agua destilada, se homogenizó y se incubó por 15 minutos para finalmente leer la absorbancia a 450 nm de longitud de onda, para cada concentración estándar.

Con los valores de concentración y densidad óptica se obtuvo el factor de calibración correspondiente.

b) Determinación de la concentración de alcaloides totales en la muestra de *Argemone mexicana* L.

Se midió 1 ml del extracto etanólico de *Argemone mexicana*, al cual se le agregaron 0,01 ml de verde de bromocresol, 0,5 ml de HCl 0,1 N, y completó a 10 ml con agua destilada, se homogenizó llevándose a incubación por 15 minutos, seguidamente se determinó la densidad óptica en el espectrofotómetro a 450 nm de longitud de onda.

Para determinar la cantidad de alcaloides totales, se multiplicó el factor de calibración y la absorbancia de la muestra problema (raíz, tallo, hoja y flores).

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Análisis de tamizaje fitoquímico en hojas, raíces, tallos y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto”, Ayacucho-2024.

	TAMIZAJE FITOQUÍMICO			
	Tallo	Flor	Raíz	Hoja
Baljet (cumarinas)	(-)	(-)	(-)	(-)
Kedde (glicósidos cardiotónicos)	(-)	(-)	(-)	(-)
Shinoda (flavonoides)	(+++)	(++)	(+)	(+)
Peróxido (saponinas)	(-)	(-)	(-)	(-)
Catequinas	(-)	(-)	(-)	(+)
Ninhidrina (aminoácidos y aminas)	(+)	(-)	(-)	(-)
Dragendorff (Alcaloides)	(+)	(+)	(++)	(+)
Benedict (azucares reductores)	(++)	(-)	(++)	(+)
Triterpenos	(++)	(++)	(+)	(+)
Cloruro férrico (compuestos Fenólicos y taninos)	(++) _F	(++) _F	(+) _F	(++) _T

Leyenda:
 (-): ausente
 (+): leve
 (++) : moderado
 (+++) : abundante
 F: Fenoles
 T: Taninos

En la tabla 1 se expresan los resultados del análisis para tamizaje fitoquímico en los extractos etanólicos de hojas, raíces, tallos y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto” mediante pruebas cualitativas que evidencian la presencia de flavonoides en tallo en nivel abundante, en la flor en el nivel regular, alcaloides en cantidad regular presente en las muestras, compuestos fenólicos en cantidad regular en tallo, raíz y hoja. Este método es utilizado ampliamente como análisis preliminar para la identificación de diferentes metabolitos secundarios como fenoles, flavonoides, alcaloides y demás, a los que se atribuyen propiedades medicinales (Khan & Bhadauria, 2019).

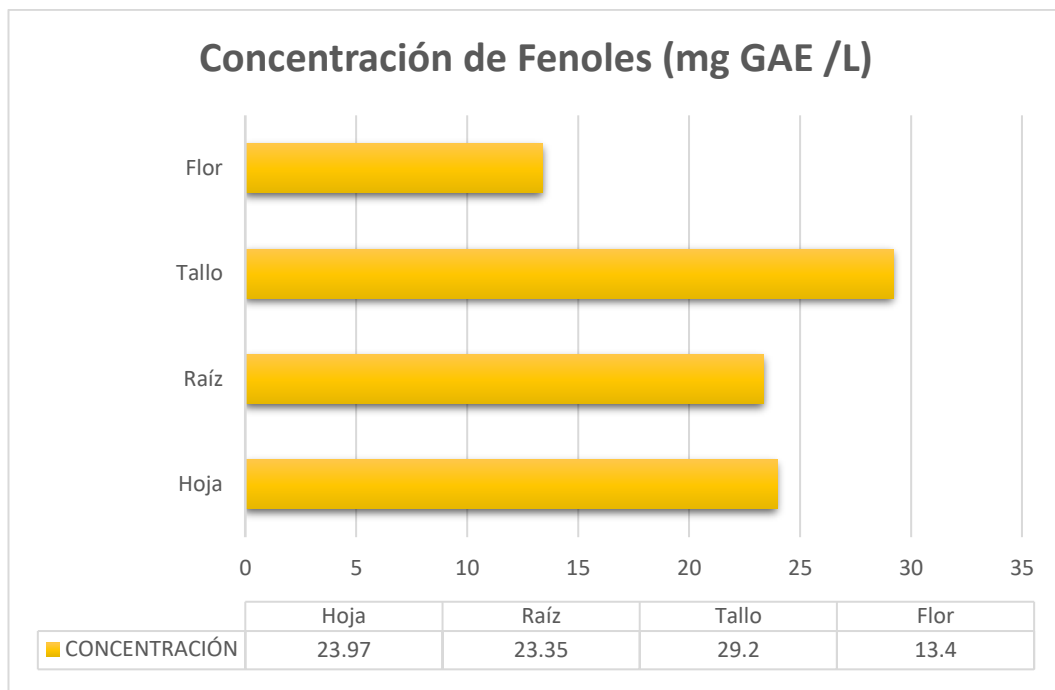


Figura 5. Concentración de fenoles en hojas, raíces, tallos y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto”, Ayacucho-2024.

Nota. se evidencia que la concentración de fenoles en extractos etanólicos de hojas de *Argemone mexicana* L. “cardosanto” presenta una media de 23,97 mg GAE / L, por otro lado, el tallo presenta un valor de 29,20 mg GAE /L a diferencia de las demás partes de la planta como las flores con un valor correspondiente a 13,40 mg GAE /L y raíz con 23,35 mg GAE /L. Sánchez & García (2022) indica que los fenoles por su naturaleza y conformación química son catalogados como antioxidantes para el cuerpo humano. Es así que, en el análisis realizado se muestra la concentración de fenoles obtenidos a partir de las diferentes partes de *Argemone mexicana* L. “cardosanto” sometidas en extractos etanólicos.

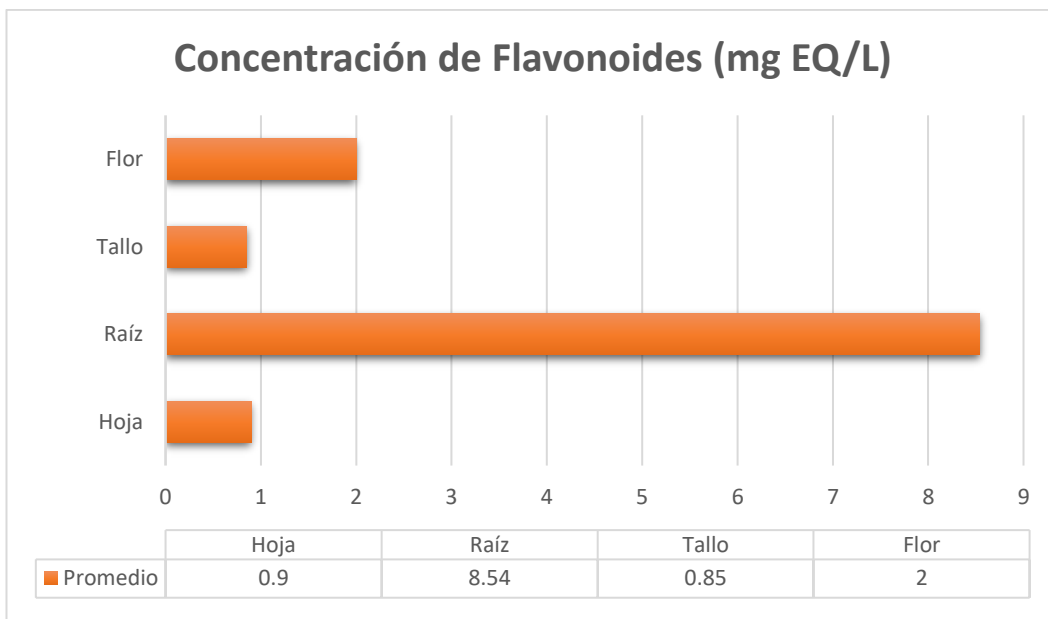


Figura 6. Concentración de flavonoides en hojas, raíces, tallos y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto”, Ayacucho -2024.

Nota. De acuerdo al análisis empleado se muestra mayores concentraciones de flavonoides en el extracto etanólico de raíces de *Argemone mexicana* L. “cardosanto” que presenta una concentración de 8,54 mg EQ/L a diferencia de otras partes de la planta el extracto etanólico de flores que registra una concentración de 2,00 mg EQ/L. Tripp (2018) menciona que los flavonoides son segregados por las plantas como medida de defensa contra patógenos y depredadores, además de actuar como protector frente a los rayos UV. Así mismo, Sánchez & García (2022) atribuyen propiedades antifúngicas, antimicrobianas, antiinflamatorias y terapéuticas a nivel cardiopático.

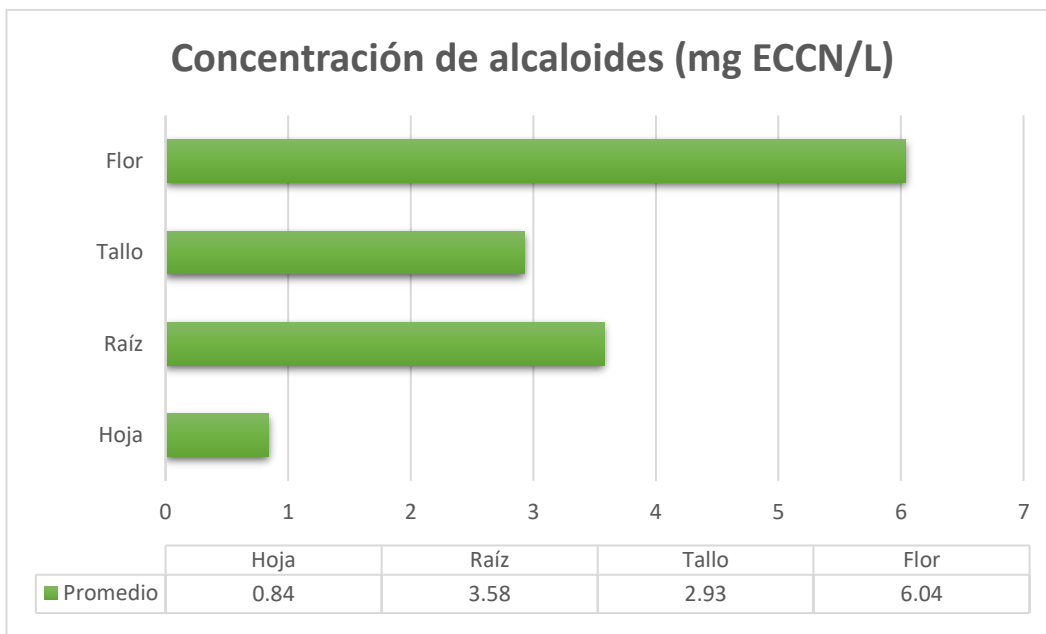
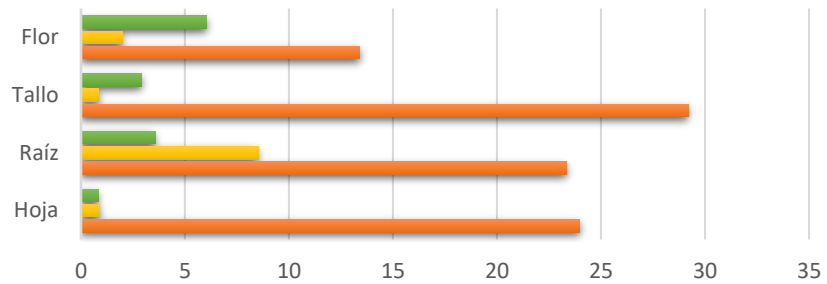


Figura 7. Concentración de alcaloides en hojas, raíces, tallos y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto”, Ayacucho -2024.

Nota. Los alcaloides cumplen un papel fundamental en las plantas como mecanismo de defensa contra patógenos y herbívoros, ya que poseen efectos fisiológicos intensos en mamíferos que podrían causar gran toxicidad; por otro lado, dosis mínimas de esta sustancia son utilizadas ampliamente en la síntesis de fármacos (Sánchez & García, 2022). En este marco, la concentración de alcaloides encontrados en *Argemone mexicana* L. “cardosanto”, de acuerdo a la figura, presenta mayor concentración en flores con valores de 6,04 mg ECCN/L referente a las demás muestras como corresponde a la hoja con un valor de 0,84 mg ECCN/L.

**concentración de fenoles, flavonoides y
alcaloides en hojas, raíces, tallos y flores de
Argemone mexicana L.**



	Hoja	Raíz	Tallo	Flor
Alcaloides (mg ECCN/L)	0.84	3.58	2.93	6.04
Flavonoides (mg EQ/L)	0.9	8.54	0.85	2
Fenoles (mg EAG/L)	23.97	23.35	29.2	13.4

Figura 8. Comparativa de concentración de fenoles, flavonoides y alcaloides en hojas, raíces, tallos y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto”, Ayacucho -2024.

Nota. Se muestra un resumen de la concentración de fenoles, flavonoides y alcaloides en extractos etanólicos de hojas, raíces, tallos y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto” en la que se evidencia su alto contenido en fenoles referente a otros metabolitos determinados en el estudio.

V. DISCUSIÓN

El análisis para la determinación de los diferentes compuestos fitoquímicos se realizó en extractos etanólicos de raíces, hojas, tallos y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto”, los cuales se sometieron a un ensayo preliminar empleando diferentes ensayos cualitativos siguiendo la metodología propuesta por Miranda & Cuellar (2016).

En la tabla 1, se muestran los resultados para el tamizaje fitoquímico, en el que se destaca la presencia de metabolitos secundarios presentes en *Argemone mexicana* L. utilizando el ensayo de Dragendorff para la determinación de alcaloides, en la que se reporta desde cantidades nulas en las hojas, poca cantidad en tallos y flores, hasta cantidades regulares en el caso de la raíz. Para el análisis de flavonoides se utilizó el ensayo Shinoda, reportando cantidades abundantes para el tallo, moderada cantidad para flores, poca cantidad en las hojas y cantidades nulas para la raíz. Dentro de los metabolitos más resaltantes se encontraron al grupo de los compuestos fenólicos en el que se registran valores en cantidades moderadas para tallos flores y hojas, a diferencia de las raíces en las que se reportan pocas cantidades. Además de estos compuestos se encontró presencia de Triterpenos azúcares reductores y catequinas en regulares cantidades sobre todo en tallos y flores. Al respecto Khan & Bhadauria (2019) reportan cantidades similares, en el ensayo de tamizaje fitoquímico en *Argemone mexicana* L. “cardosanto” evidencian la presencia de alcaloides en cantidades regulares, flavonoides en concentraciones abundantes y fenoles en cantidades

regulares, para cada parte de la planta (hojas, tallos y flores) a los que atribuyen las propiedades curativas, antibacterianas, antifúngicas y de consideración esencial para el tratamiento de pacientes con cáncer. Además de estos compuestos Elizondo et al., (2020) utilizando este mismo ensayo encontró metabolitos como quinonas, esteroides, triterpenos, saponinas y carbohidratos. Por otro lado, Montes (2017) realizó un estudio fitoquímico basado solo en el análisis del látex de *A. mexicana* en la que se reportan presencia de alcaloides, fenoles y taninos en cantidades abundantes. En un estudio más reciente, Carbajal (2024) reporta en el análisis fitoquímico cantidades moderadas de compuestos fenólicos, cantidades abundantes de flavonoides y taninos, lo que concuerda con los resultados obtenidos en el ensayo realizado, a su vez, menciona la presencia en cantidades abundantes de aminoácidos y azúcares reductores. Por otro lado, Yaulema et al. (2023) realizó un análisis en extracto acuoso y etanólico en plantas de *A. mexicana* provenientes de la sierra central de Ecuador, en el que se reportaron gran cantidad de compuestos grasos, compuestos fenólicos, taninos y alcaloides como berberina, protopina y bencilisoquinolina en el extracto etanólico, pero menor proporción en el acuoso. Por ello resalta que la presencia de estos compuestos se ve delimitada por el tipo de extracto que se emplea para la extracción, la cual a su vez varía si se trabaja con la planta completa o directamente con el látex, ya que algunos compuestos poseen solubilidad, por lo que para su mejor extracción recomiendan el uso del látex para la preparación de los extractos y de preferencia solventes como el etanol.

En la figura 5, se observa los valores para la concentración de fenoles totales en *Argemone mexicana* L. "cardosanto" en el que resalta el tallo exhibiendo mayor contenido de fenoles con una media de 29,2 mg GAE/L a diferencia de las hojas con una media de 23,97 mg GAE/L. Del mismo modo Khan & Bhadauria (2019) reportaron la concentración elevada de fenoles totales para los tallos $28,5 \pm 1,15$ mg GAE/gdw (gramos de extracto vegetal) y menores concentraciones en las hojas con $20,89 \pm 0,89$ mg GAE/gdw. Por otro lado, De Jesús (2019) realiza un análisis del total de la planta, quien reporta 20,11 mg Eq. de AG/g de muestra para polifenoles, resaltando que el extracto isopropanólico de *A. mexicana* registra el mayor valor frente a otro tipo de extractos utilizados, ya que su concentración se puede ver afectada por el solvente utilizado para la extracción. A diferencia de Mansoor & Ali (2022) quienes utilizaron las hojas de *Argemone mexicana*.

provenientes de la india, empleando el método de extracción tipo Soxhlet y espectrofotometría, evidenciaron resultados en base a la extracción de los componentes a partir de los extractos etanólicos en el que se encontró mayor cantidad de fenoles totales en una concentración de 489,45 mg/100 g de muestra. Además, se visualizó dentro de la investigación realizada, que las flores son la parte de la planta que presentan menores índices de concentración, con un valor promedio de 13,4 mg GAE/L.

En el caso de flavonoides Khan & Bhadauria (2019) menciona que la mayor concentración del contenido de flavonoides se registró en las flores con un valor de $41,76 \pm 0,74$ mg QE/gdw, a diferencia del análisis que se muestra en la figura 6, en la que se evidencia mayores concentraciones de flavonoides en el extracto etanólico de raíces de *Argemone mexicana* L. "cardosanto" presentando una concentración de 8,54 mg EQ/L, en comparación al extracto etanólico de flores que registra una concentración de 2,00 mg EQ/L, lo cual concuerda con el estudio preliminar cualitativo realizado. En cambio, Mansoor & Ali (2022) reportan que las hojas presentan el mayor contenido de flavonoides con una media de 3422,12 mg/100 g de muestra. quienes concluyeron que dicho extracto posee propiedades antioxidantes considerablemente significativas debido a su contenido alto en compuestos fenólicos. Resultado que difiere con el estudio realizado en el que la concentración promedio de flavonoides en hojas presenta un valor de 0,9 mg EQ/L. Por otro lado, Carbajal (2024) reporta cantidades mayores para flavonoide en las flores con una media de 8,22 ug/ml referente a las hojas con una media de 6,61 ug/ml en extracto hidroalcohólico de *Argemone mexicana* L. "cardosanto".

Dentro del estudio realizado se muestra en figura 7, que evidencia los valores obtenidos para la concentración de alcaloides totales por el tipo de muestra, reportando mayor concentración elevadas en flores con valores de 6,04 mg ECCN/L, referente a las demás muestras como corresponde a la hoja con un valor de 0,84 mg ECCN/L. Por otro lado, Simoes et al. (2014) menciona la presencia de alcaloides, específicamente altos índices de berberina, protopina y alocriptopina con valores referentes de 1,46 ug/ml, mencionando a su vez que presentan citotoxicidad in vitro frente a *T. cruzi* y *Trypanosoma brucei.*, reduciendo su parasitemia, estos alcaloides fueron extraídos a partir de un procedimiento de decocción (propuesto por el curandero local de Missidougou) y fraccionamiento

fitoquímico biogénico. Por otro lado, Loza et al. (2021) señaló que durante la germinación de la especie *Argemone mexicana* L. se observaron grandes cantidades de acumulaciones de alcaloides, sobre los que resalta la sanguinarina. Estos alcaloides fueron encontrados en mayores porcentajes en las cubiertas del pericarpio correspondiente a un 60-65% a diferencia de las demás estructuras de la plántula. Además, se observó la presencia de berberina en semillas inmaduras y en plántulas en desarrollo con los cotiledones desplegados. Por su lado Montes (2017) realizó un estudio fitoquímico del látex de *A. mexicana* con la finalidad de identificar los metabolitos secundarios presentes en la planta para evaluar su genotoxicidad, en la que se reportan presencia de alcaloides, fenoles y taninos en cantidades abundantes, seguidamente se hizo una estimación de genotoxicidad “*in vitro*” mediante electroforesis en gel de agarosa, en el cual se determinó que la planta posee efecto genotóxico en el ADN genómico humano, en concentraciones que van a partir del 10 al 100 % de concentración. Mientras que Jurado (2024) evidenció la presencia de fenoles, flavonoides y alcaloides en altas cantidades, cuyos metabolitos atribuían propiedades de importancia clínica significativas al compararlas con otros antibióticos. concluyeron así que el extracto etanólico de *A. mexicana* no mostró toxicidad a dosis de 2000 mg/Kg, además presenta propiedades antiinflamatorias a dosis de 750 mg/Kg en comparación al diclofenaco en una proporción de 76,49 % / 82,43 % y analgésicas a dosis de 500 mg/Kg frente al ácido acetilsalicílico (aspirina).

VI. CONCLUSIONES

1. La evaluación cualitativa para *Argemone mexicana* L. "cardo santo", evidenció la presencia de compuestos fenólicos en cantidades abundantes, alcaloides y flavonoides en cantidades regulares.
2. La concentración de fenoles en hojas de *Argemone mexicana* L. presenta una media de 23,97 mg GAE /L, tallos 29,2 mg GAE /L, flores 13,4 mg GAE /L y raíz 23,4 mg GAE /L.
3. La concentración de flavonoides en extractos etanólicos de hojas de *Argemone mexicana* L. presenta una media de 0,9 mg EQ /L, tallos 0,85 mg EQ /L, flores 2,0 mg EQ /L y raíz 8,54 mg EQ /L.
4. La concentración de alcaloides totales en extractos etanólicos de hojas de *Argemone mexicana* L. presenta una media de 0,84 mg ECCN/L, tallos 2,93 mg ECCN/L, flores 6,04 ECCN/L y raíz 3,6 mg ECCN/L.
5. *Argemone mexicana* L. presenta mayor concentración de compuestos fenólicos en el tallo, con una media de 29, 2 mg GAE /L., para flavonoides en la raíz con 8,54 mg EQ /L., y alcaloides con mayor proporción en las flores con 6, 04 mg ECCN/L.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar la determinación cuantitativa de otros principios bioactivos presentes en *Argemone mexicana* L.
2. Realizar estudios específicos para determinar tipos de alcaloides, fenoles y flavonoides en *Argemone mexicana* L.
3. Abarcar mayor zona de muestreo con plantas provenientes de diversas zonas geográficas.
4. Realizar estudios complementarios con la utilización de estos compuestos y su aplicación, así mismo determinar el grupo de metabolitos y concentración mínima en la que presentan toxicidad.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahumada, A., Ortega, A., Chito, D., & Benítez, R. (2016). Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): Un subproducto con alto potencial biológico. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 45(3), 438-469. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v45n3.62043>
- Allegretti, P.E. (2022) *Química Orgánica II, Portal de Libros de la Universidad Nacional de La Plata*. Available at: <https://libros.unlp.edu.ar/index.php/unlp/catalog/book/1990> (Accessed: 28 March 2024).
- Angaspilco, F., & Cárdenas, W. (2017). Determinación de taninos y flavonoides del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze “Taya” procedentes de las provincias de Jaén, Contumazá y Cajamarca [Optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico, UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO]. <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/463/FYB-007-2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Arones, M. R., Cárdenas, E., Luna, H. R., Barbarán, S. M., & Gómez, M. (2022). 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*, 88(2), 165-179. Epub 30 de octubre de 2022. <https://dx.doi.org/10.37761/rsqp.v88i2.388>
- Brahmachari, G., Gorai, D., & Roy, R. (2013). *Argemone mexicana*: chemical and pharmacological aspects. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23, 559-567. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000021>.
- Carbajal Gutierrez, Y. (2024). Contenido de flavonoides totales, hierro y calcio en hojas y flores de *Argemone mexicana* L. “cardo santo”, Ayacucho-2023. <https://repositorio.unsch.edu.pe/items/ac753ed3-32ed-438a-b610-5e41569d767c>
- Chilón, N., & Tingal, A. (2020). Cuantificación de hierro en los extractos de *Beta vulgaris* “acelga” y *Spinacia oleracea* “espinaca” para incentivar su consumo en la prevención de anemia [tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico, Universidad Privada Antonio Guillermo rrelo]. <http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/1383>

- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). (2016). *Argemone mexicana* (L.), 1753 [Ficha técnica]. SIVICOFF. http://sivicoff.cnf.gob.mx/ContenidoPublico/MenuPrincipal/07Fichas%20tecnicas_OK/02Fichas%20tecnicas/Fichas%20t%C3%A9cnicas%20CONABIO_especies%20ex%C3%B3ticas/Fichas%20plantas%20invasoras/A_B/Argemone%20mexicana.pdf
- De Jesús, D. G. T. (2019). Determinación de la actividad antimicrobiana de nanopartículas producidas por síntesis con extracto de *Argemone mexicana*. <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/9355>
- Díaz, N. A., Antonio Bárcena Ruiz, J., Reyes, E. F., Cejudo, A. G., Novo, J. J., Peinado, J. P., Meléndez-Valdés, F. T., & Fiñana, I. T. (2000). 8. *Espectrofotetría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*. Uco.es. https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf
- Elizondo Luevano, J. H., Verde Star, J., González Horta, A., Castro Ríos, R., Hernández García, M. E., & Chávez Montes, A. (2020). In Vitro Effect of Methanolic Extract of *Argemone mexicana* against *Trichomonas vaginalis*. *The Korean Journal of Parasitology*, 58(2), 135–145. <https://doi.org/10.3347/kjp.2020.58.2.135>
- García, R. D. (2018). *Universidad de los Andes Mérida, Venezuela*. Redalyc.org. <https://www.redalyc.org/journal/933/93368279004/93368279004.pdf>
- Guerrero, M. (2012, September). *Alcaloides totales y actividad antioxidante de extractos metanólicos de hojas de Ipomoea murucoides (casahuate)*. 78.
- Ji, G. Shukla, P. Dwivedi, S. Sundaram, R. Prakash (2011) Inhibitive effect of *Argemone mexicana* plant extract on acid corrosion of mild Steel Ind. Eng. Chem. Res., 50, pp. 11954-11959
- Jimoh, F., Adedapo, A., Aliero, A., & Afolayan, A. (2009). Polyphenolic and biological activities of leaves extracts of *Argemone subfusiformis* (*Papaveraceae*) and *Urtica urens* (*Urticaceae*). *Revista de biologia tropical*, 58(4). <https://doi.org/10.15517/rbt.v58i4.5428>
- Jurado Anicama, Y. J. (2024). Evaluación de la actividad antiinflamatoria, analgésica y toxicidad aguda del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana* L. "Cardo Santo".

- Khan, A. M., & Bhadauria, S. (2019). Analysis of medicinally important phytochemicals from *Argemone mexicana*. *Journal of King Saud University. Science*, 31(4), 1020–1026. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.05.009>
- Loza Müller, L. J. A., Laines Hidalgo, J. I., Monforte González, M., & Vázquez Flota, F. (2021). Alkaloid Distribution in Seeds of *Argemone mexicana* L. (*Papaveraceae*). *Journal of the Mexican Chemical Society*, 65(4). <https://doi.org/10.29356/jmcs.v65i4.1574>
- Mansoor, A., & Ali, S. (2022). Phytochemical Characterisation of *Argemone mexicana* Leaf Extracts. *International Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 56(2s), 294. <https://doi.org/10.5530/ijper.56.2s.s294>
- Martínez, H. L. D. (2016). *Actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto hidroalcohólico del látex de Argemone mexicana "Cardo santo"* (Doctoral dissertation, Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico] ed. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos).
- Miranda, M., & Cuellar, A. (2016). Manual de prácticas de laboratorio. *Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Editorial Félix Varela*, 70-110.
- Montes Enciso, M. E. (2017). Efecto genotóxico in vitro del látex de plantas medicinales de uso dérmico *Argemone mexicana* L. "cardo santo" y *Taraxacum officinale* "diente de león". Ayacucho, 2017.
- Ochoa García, P. P., Sánchez Salas, J., Trejo Calzada, R., Quezada Rivera, J. J., & García González, F. (2024). Morphometry and Mineral Content in the Seeds and Soil of Two Species of *Argemone* L. (*Papaveraceae*) in the Central Part of the Chihuahuan Desert. *PHYTON-INTERNATIONAL JOURNAL OF EXPERIMENTAL BOTANY*.
- Pathak, R., Goel, A., & Tripathi, S. C. (2021). Medicinal property and ethnopharmacological activities of *Argemone mexicana*: an overview. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 1615-1641.
- Sampieri, R., Fernández, C., & Baptista, P. (2014). Metodología de la investigación (6.a ed.). Mc Graw Hill Education. <https://www.esup.edu.pe/wpcontent/uploads/2020/12/2.%20Hernandez,%20Fernandez%20y%20Ba>

ptistaMetodolog%C3%ADa%20Investigacion%20Cientifica%206ta%20e
d.pdf

- Sánchez, F. L., & García, F. (2022). Fitoquímica. *Fitoquímicos y Metabolismo Secundario (sin edición)*. Universidad Nacional Autónoma de México, 12.
- Santos-Sánchez N., Salas-Coronado R., Hernández-Carlos B. and Villanueva-Cañongo C. (2019) Shikimic Acid Pathway in Biosynthesis of Phenolic Compounds DOI: 10.5772/intechopen.83815
- Simoës Pires, C., Hostettmann, K., Haouala, A., Cuendet, M., Falquet, J., Graz, B., & Christen, P. (2014). Reverse pharmacology for developing an anti-malarial phytomedicine. The example of *Argemone mexicana*. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 4(3), 338-346.
- Singh, S., Singh, T. D., Singh, V. P., & Pandey, V. B. (2010). Quaternary alkaloids of *Argemone mexicana*. *Pharmaceutical Biology*, 48(2), 158–160. <https://doi.org/10.3109/13880200903062622>
- Soto, I. H., Maldonado, A. J., Montiel, R. G. C., Álvarez, G. A., & Hernández-Fuentes, A. D. (2022). *Argemone mexicana* contiene metabolitos secundarios que controlan hongos fitopatógenos. *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*, 8(15), 6-10.
- Tripp, E. A., Zhuang, Y., Schreiber, M., Stone, H., & Berardi, A. E. (2018). Evolutionary and ecological drivers of plant flavonoids across a large latitudinal gradient. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 128, 147-161.
- Yaulema, C. S. C., Molina, W. E. M., Vilema, W. P. T., Astudillo, L. J. P., & D'Armas, H. (2023). Composición química y actividad antifúngica del látex de *Argemone mexicana* (Cardo Santo). *FACSAUD-UNEMI*, 7(12), 19-36.

ANEXOS

Anexo 1. Selección y colecta de muestra de *Argemone mexicana* L “cardo santo”.

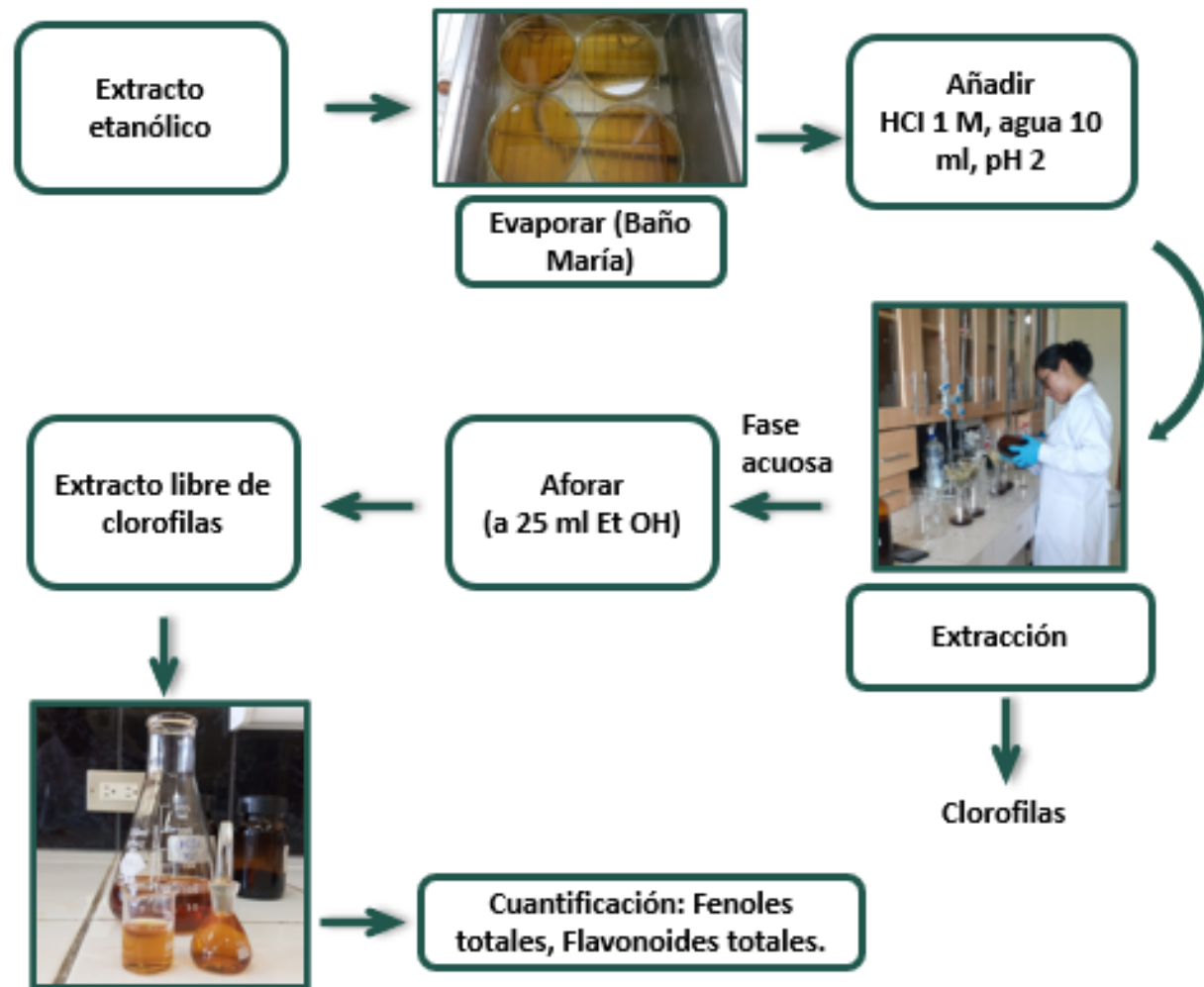


Nota. La colecta se realizó por un proceso no probabilístico, por conveniencia en la que los criterios de selección fueron que las plantas se encuentren en perfecto estado, sin plagas acompañantes, independientemente de su estado fenológico. En la que se visualizada la colecta de flores en la imagen (A) se debe al tungsteno, imagen (B) colecta de hojas, imagen (C) proceso para colecta de raíces y (D) imagen del rotulado correspondiente para cada parte de la planta, para su colecta y posterior traslado a la zona de análisis.

Anexo 2. Flujo de procesos para la obtención de metabolitos de *Argemone mexicana* L.



Anexo 3. Flujograma de remoción de clorofilas



Anexo 4. Esquema para la determinación de fenoles



Anexo 5. Esquema para la determinación de flavonoides



Anexo 6. Esquema para la determinación de alcaloides.

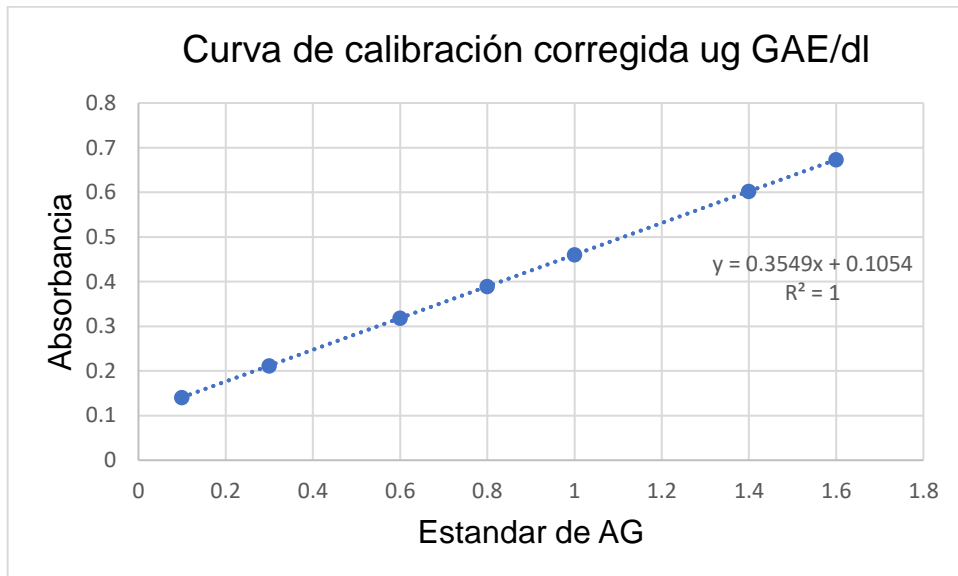
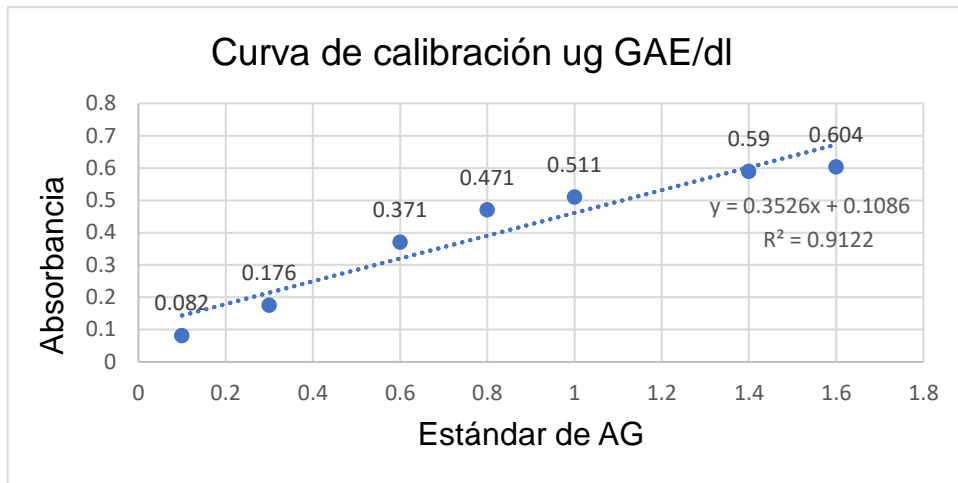


Anexo 7. Curvas de calibración de fenoles, flavonoides y alcaloides presentes en el extracto etanólico de *Argemone mexicana* L.



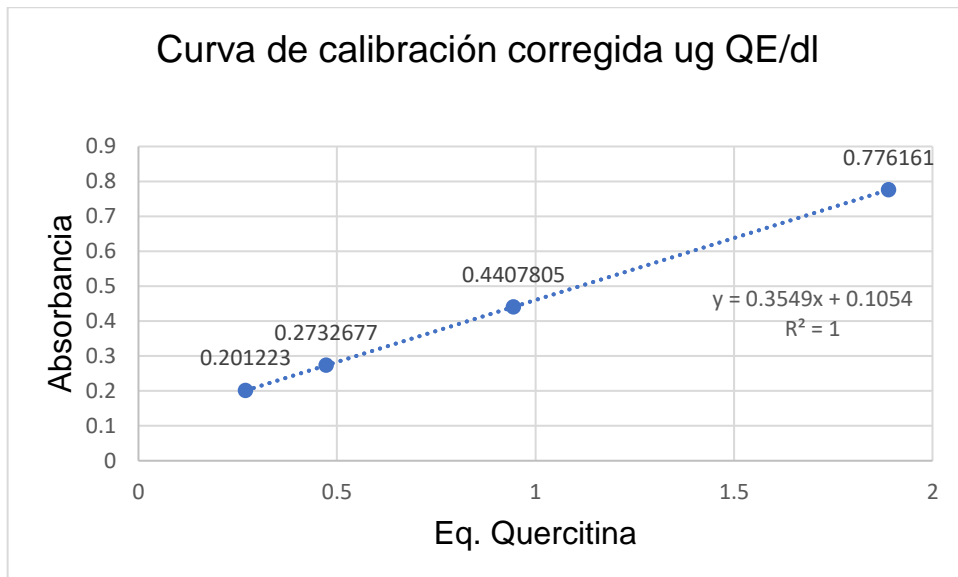
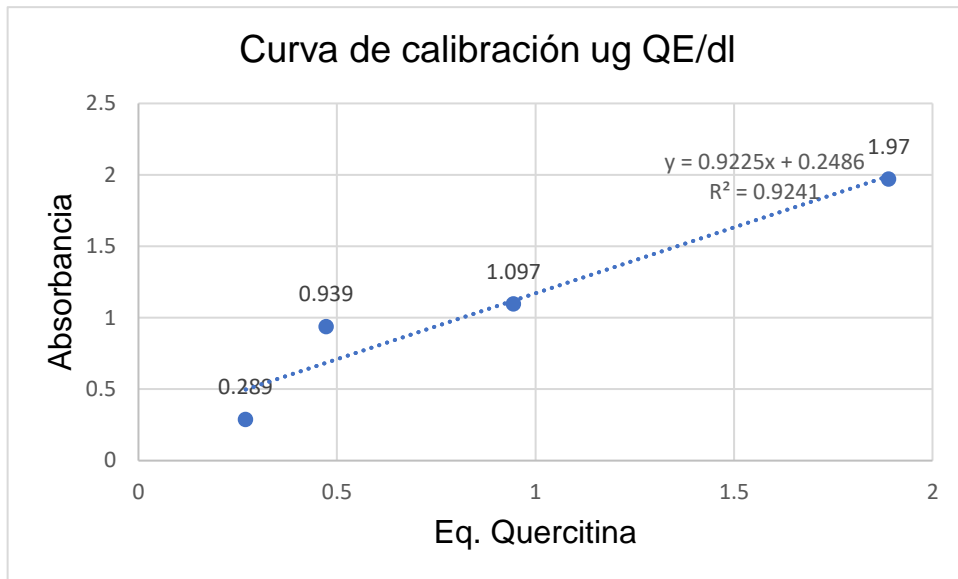
Nota. La coloración azul fuerte visualizada en la imagen (A) se debe al tungsteno y molibdeno utilizado para la determinación de fenoles por el método Folin-Ciocalteu, la imagen (B) muestra la curva de calibración para flavonoides con una coloración amarilla intensa de acuerdo a la metodología de Kostennikova Z. Asimismo, la imagen (C) expresa una coloración verdosa debido al colorante verde de bromocresol utilizado en el método colorimétrico de Shamsa et al., (2008).

Anexo 8. Curva de calibración corregida por el método de mínimos cuadrados para fenoles

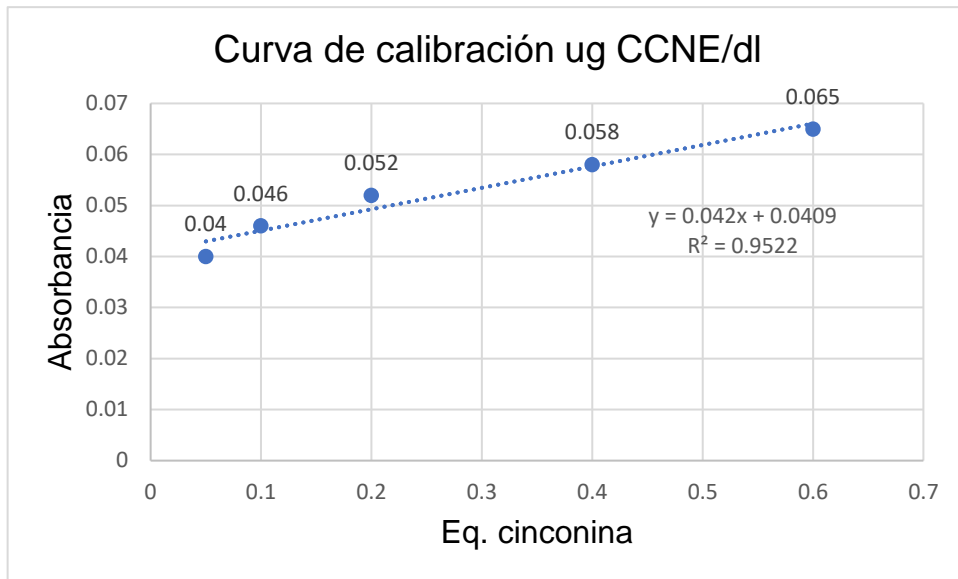


Nota. Se realiza la corrección de la recta por el método de mínimos cuadrados para obtener el valor de $R=1$, que según el coeficiente de correlación de Pearson menciona que un valor igual a 1 significa una correlación positiva perfecta, si es cercana a 0,9 corresponde a una correlación positiva fuerte, la cual determina el nivel de relación entre variables.

Anexo 9. Curva de calibración para flavonoides corregida por el método de mínimos cuadrados



Anexo 10. Curva de calibración corregida por el método de mínimos cuadrados para alcaloides



Anexo 11. Tabla del contenido de fenoles en raíces, tallos, hojas y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto”, Ayacucho-2024.

Concentración de Fenoles (mg GAE /L)

	R1	R2	R3	Promedio	Desv. Est.
Hoja	23,97	24,17	23,77	23,97	0,20
Raíz	23,42	23,52	23,12	23,35	0,21
Tallo	29,13	29,53	28,93	29,20	0,31
Flor	13,23	13,53	13,43	13,40	0,15

Anexo 12. Tabla del contenido de flavonoides en raíces, tallos, hojas y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto”, Ayacucho-2024.

Concentración de Flavonoides (mg EQ/L)

Muestra	R1	R2	R3	Promedio	Desv. Est.
Hoja	0,96	1,07	0,66	0,90	0,21
Raíz	8,57	8,67	8,37	8,54	0,15
Tallo	0,82	1,12	0,62	0,85	0,25
Flor	1,80	2,20	2,00	2,00	0,20

Anexo 13. Tabla del contenido de alcaloides en raíces, tallos, hojas y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto”, Ayacucho-2024.

Concentración de alcaloides (mg ECCN/L)

	R1	R2	R3	Promedio	Desv. Est.
Hoja	0,74	0,84	0,94	0,84	0,10
Raíz	3,44	3,64	3,64	3,58	0,01
Tallo	2,76	3,06	2,96	2,93	0,01
Flor	5,84	6,24	6,04	6,04	0,02

Anexo 14. Datos del contenido de sólidos totales de los extractos etanólicos de raíces, tallos, hojas y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto”, Ayacucho-2024.

Sólidos totales					
Muestra	R1	R2	R3	X	D.S
Tallo	3,750	3,750	3,710	3,737	0,019
Raíz	6,163	6,167	6,123	3,151	0,020
Hoja	3,800	3,780	3,830	3,803	0,021
Flor	3,700	3,670	3,710	3,693	0,017

Leyenda:

R1, R2, R3: Muestras por repeticiones

X: Promedio

D.S: Desviación estándar

Nota. Se muestran los resultados para en análisis de solidos totales en los extractos etanólicos de hojas, raíces, tallos y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto”, en el que se visualiza para la hoja se obtuvo la media de 3,80 a diferencia de la raíz que registra el menor valor con 3,15 de media.

Anexo 15. Datos de la densidad de los extractos etanólicos de raíces, tallos, hojas y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto”, Ayacucho-2024.

Densidad					
Muestra	R1	R2	R3	X	D.S
Tallo	0,9097	0,9096	0,9095	0,9096	0,0013
Raíz	0,9154	0,9150	0,9147	0,9150	0,0003
Hoja	0,8897	0,8997	0,8797	0,8897	0,0082
Flor	0,9354	0,9454	0,9254	0,9354	0,0082

Leyenda:

R1, R2, R3: Muestras por repeticiones

X: Promedio

D.S: Desviación estándar

Nota. Se observa los resultados de la densidad en los extractos etanólicos de hojas, raíces, tallos y flores de *Argemone mexicana* L. “cardosanto”, en la que se observa mayor densidad en la flor con una media de 0,9494 g/ml a diferencia de las demás partes de la planta como la hoja con un valor de 0,90 g/ml.

Anexo 16. Análisis estadístico

ANOVA de un solo factor: Fenoles

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0,05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Factor	4	Fen_hoja; Fen_raíz; Fen_tallo; Fen_flor

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	3	391,810	130,603	2612,07	0,000
Error	8	0,400	0,050		
Total	11	392,210			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0,223607	99,90%	99,86%	99,77%

Medias

Factor	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Fen_hoja	3	23,970	0,200	(23,672; 24,268)
Fen_raíz	3	23,353	0,208	(23,056; 23,651)
Fen_tallo	3	29,197	0,306	(28,899; 29,494)
Fen_flor	3	13,3967	0,1528	(13,0990; 13,6944)

Desv.Est. agrupada = 0,223607

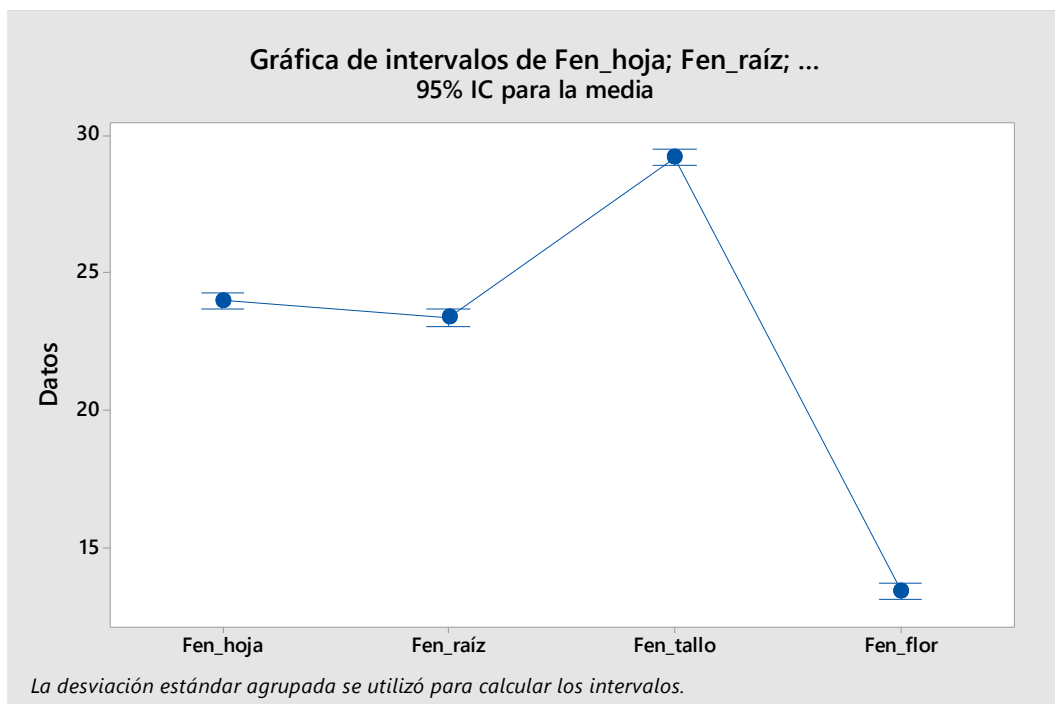
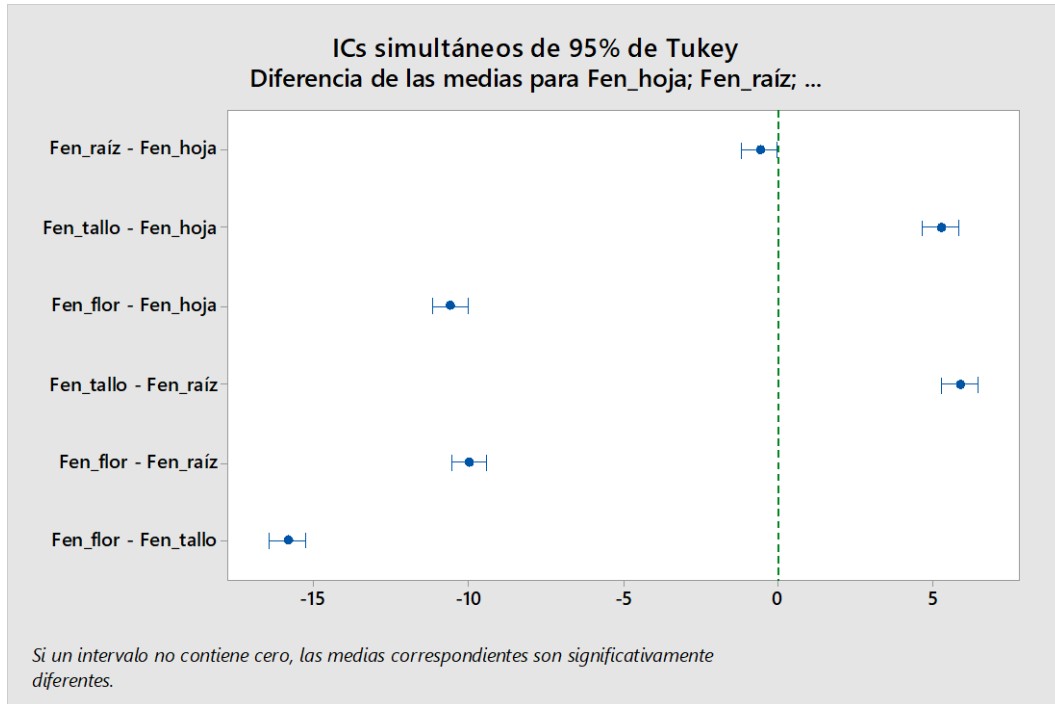
Comparaciones en parejas de Tukey

Se agrupa la información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación
Fen_tallo	3	29,197	A
Fen_hoja	3	23,970	B

Fen_raíz	3	23,353	C
Fen_flor	3	13,3967	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Flavonoides

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0,05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Factor	4	Fla_hoja; Fla_raiz; Fla_tallo; Fla_flor

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	3	121,999	40,6663	947,38	0,000
Error	8	0,343	0,0429		
Total	11	122,342			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0,207183	99,72%	99,61%	99,37%

Medias

Factor	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Fla_hoja	3	0,897	0,212	(0,621; 1,173)
Fla_raiz	3	8,5367	0,1528	(8,2608; 8,8125)
Fla_tallo	3	0,853	0,252	(0,577; 1,129)
Fla_flor	3	2,000	0,200	(1,724; 2,276)

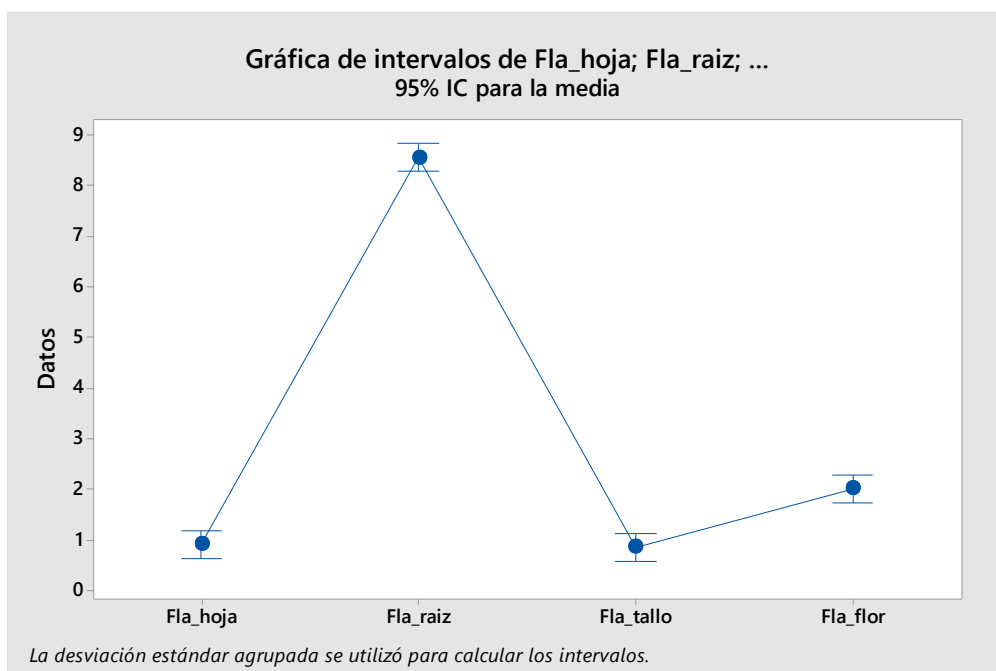
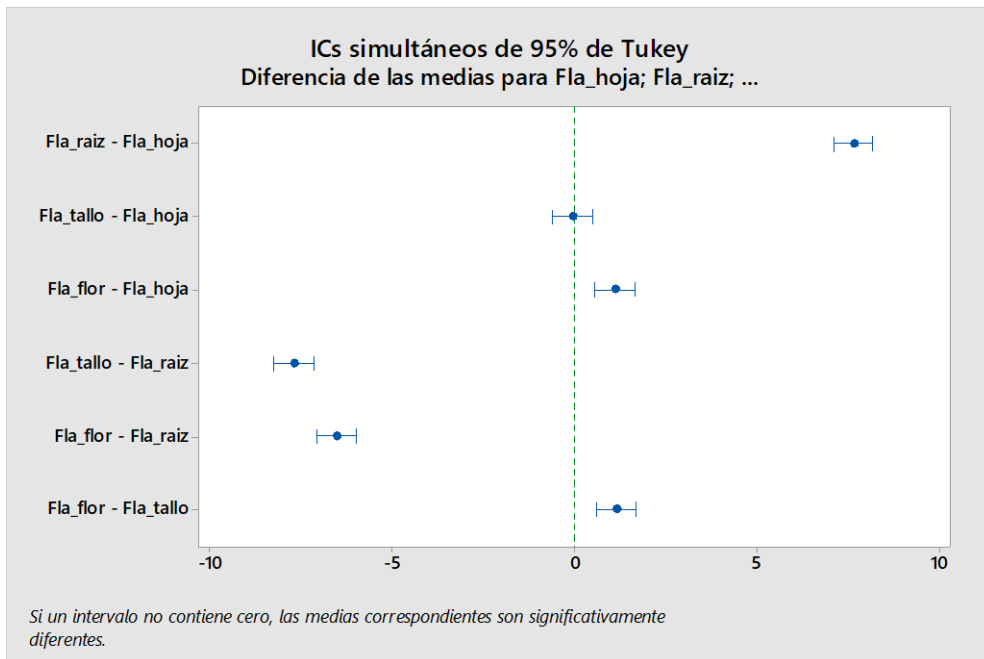
Desv.Est. agrupada = 0,207183

Comparaciones en parejas de Tukey

Se agrupa la información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación
Fla_raiz	3	8,5367	A
Fla_flor	3	2,000	B
Fla_hoja	3	0,897	C
Fla_tallo	3	0,853	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Alcaloides

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0,05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Factor	4	Alc_Hoja; Alc_raiz; Alc_tallo; Alc_flor

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	3	41,2956	13,7652	635,32	0,000
Error	8	0,1733	0,0217		
Total	11	41,4689			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0,147196	99,58%	99,43%	99,06%

Medias

Factor	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Alc_Hoja	3	0,8400	0,1000	(0,6440; 1,0360)
Alc_raiz	3	3,5733	0,1155	(3,3774; 3,7693)
Alc_tallo	3	2,9267	0,1528	(2,7307; 3,1226)
Alc_flor	3	6,040	0,200	(5,844; 6,236)

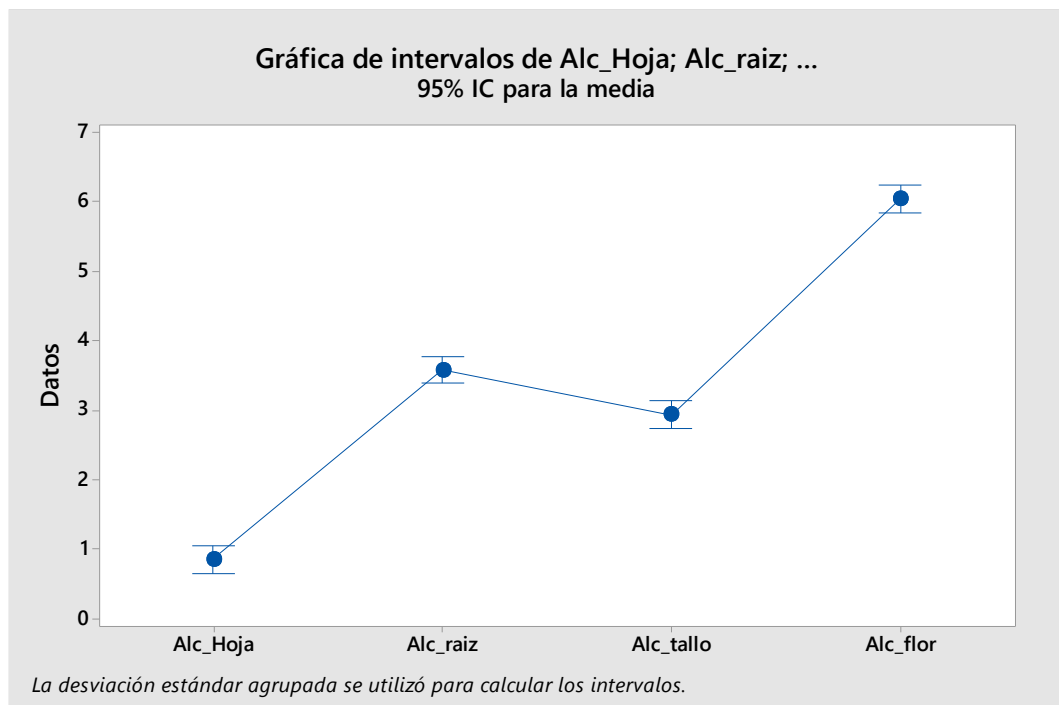
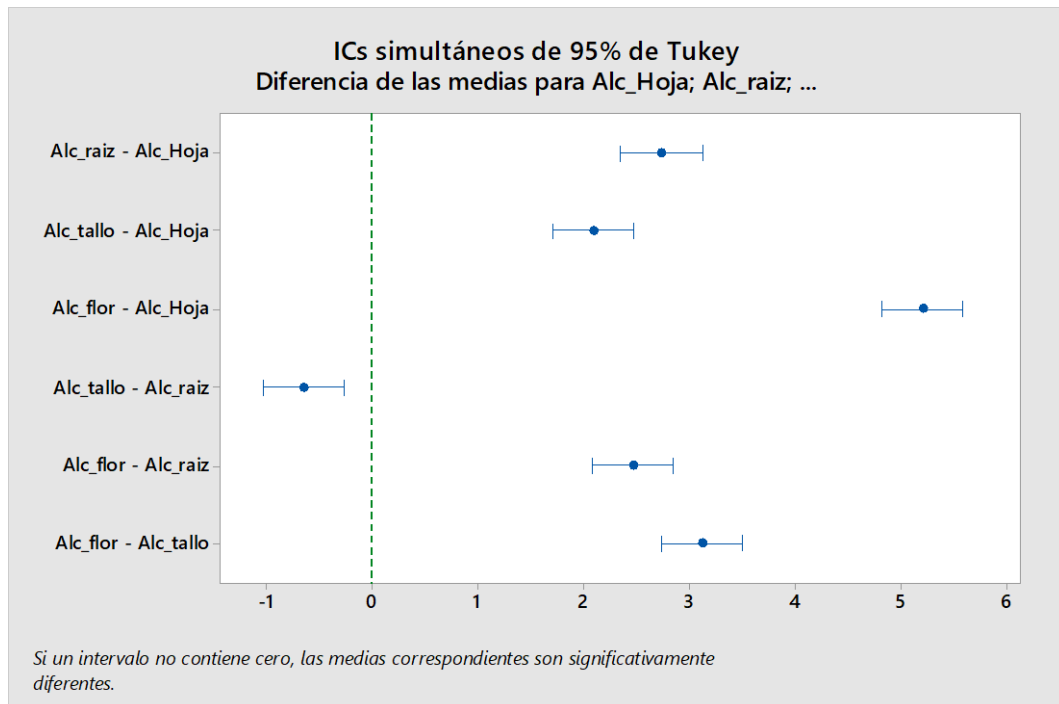
Desv.Est. agrupada = 0,147196

Comparaciones en parejas de Tukey

Se agrupa la información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación
Alc_flor	3	6,040	A
Alc_raiz	3	3,5733	B
Alc_tallo	3	2,9267	C
Alc_Hoja	3	0,8400	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



Anexo 17. Matriz de consistencia

TITULO: Cuantificación del contenido de fenoles, flavonoides y alcaloides totales en extracto etanólico de *Argemone mexicana* L. "cardo santo", Ayacucho-2024

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
¿Cuál será el contenido de fenoles, flavonoides y alcaloides totales presentes en el extracto etanólico de <i>Argemone mexicana</i> L. "cardo santo", Ayacucho-2024?	<p>Objetivo general: Determinar la concentración de fenoles, flavonoides y alcaloides totales en extracto etanólico de <i>Argemone mexicana</i> L. "cardo santo", Ayacucho-2024.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Realizar el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de raíces, tallos, hojas y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. "cardo santo". - Analizar el contenido de alcaloides totales en raíces, tallos, hojas y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. "cardo santo". - Cuantificar el contenido de fenoles totales en raíces, tallos, hojas y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. "cardo santo". - Cuantificar el contenido de flavonoides totales en raíces, tallos, hojas y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. "cardo santo". - Identificar que parte de la planta presenta mayor concentración de fenoles, flavonoides y alcaloides totales en el extracto etanólico de <i>Argemone mexicana</i> L. "cardo santo". 	El contenido de fenoles, flavonoides y alcaloides totales en <i>Argemone mexicana</i> L. "cardo santo" varía significativamente entre las diferentes partes de la planta.	<p>Variable 1 Fenoles totales Indicador Equivalentes de ácido gálico mg GAE/L</p> <p>Variable 2 Flavonoides totales Indicador Equivalentes de quercetina mg QE/L</p> <p>Variable 3 Alcaloides totales Indicador Equivalentes de Cinconina mg ECCN/L</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Antecedentes - Aspectos botánicos de <i>Argemone mexicana</i> L. "cardo santo" - Descripción botánica - Distribución geográfica - Usos tradicionales - Clasificación sistemática - Composición química - Compuestos fenólicos - Fenoles - Flavonoides - Alcaloides - Tamizaje fitoquímico - Espectrofotometría 	<p>Población Plantas de <i>Argemone mexicana</i> L. "cardo santo", provenientes de la ciudad universitaria de la UNSCH, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho del 2024.</p> <p>Muestra 2 kg de raíces, tallos, hojas, y flores de <i>Argemone mexicana</i> L. "cardo santo".</p> <p>Muestreo: No probabilístico o por conveniencia.</p> <p>Tipo de investigación Básica</p> <p>Diseño de investigación Descriptiva</p> <p>Régimen de la investigación Libre</p> <p>Metodología</p> <ul style="list-style-type: none"> - Recolección de las muestras <i>Argemone mexicana</i> L. "cardo santo" - Preparación de las muestras. - Pre tratamiento de la muestra de <i>Argemone mexicana</i> L. "cardo santo", para la extracción de metabolitos - Tamizaje fitoquímico - Cuantificación de fenoles (Folin-Ciocalteu), flavonoides (Kotshnikova Z) y alcaloides totales (shamsha), <p>Análisis estadístico Para el análisis estadístico los resultados serán expresados en promedios y desviación estándar utilizando la estadística descriptiva.</p>

**UNSCH**FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS


ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
Bach. Jeniffer Regina ROMANI GARCIA
RESOLUCIÓN DECANAL N° 138-2025-UNSCH-FCB-D

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día miércoles catorce de mayo del año dos mil veinticinco; se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, participando como presidente el Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista, el Dr. Jesús Javier Ñaccha Urbano (miembro – jurado), el Mg. Jime Jack Rivera Villar (miembro – jurado), la Mg. Roxana Karen Carhuaz Condori (miembro – jurado), Dr. Raúl Antonio Mamani Aycachi (miembro – asesor), actuando como secretario docente encargada la Mg. Roxana Karen Carhuaz Condori con memorando N° 091-2025-UNSCH (IN) – FCB de fecha trece de mayo del año dos mil veinticinco; para presenciar la sustentación de tesis titulada: **Cuantificación del contenido de fenoles, flavonoides y alcaloides totales en extracto etanólico de *Argemone mexicana* L. "cardo santo", Ayacucho – 2024**, presentado por la Bach. Jeniffer Regina ROMANI GARCIA; el presidente luego de verificar la documentación presentada, indicó al secretario docente dar lectura a la documentación generada que refrenda el presente acto académico, luego de ello dispuso el inicio del acto de sustentación, indicando a la sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece en el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Culminada la exposición, el presidente invitó a cada uno de los Miembros del Jurado a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas a la sustentante. Culminada esta etapa, el presidente invitó a la sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones y calificaciones; cuyos resultados son los que se consignan a continuación:

Miembros del Jurado Evaluador	Exposición	Respuesta/preguntas	Promedio
Dr. Jesús Javier Ñaccha Urbano	17	17	17
Mg. Jime Jack Rivera Villar	17	16	17
Mg. Roxana Karen Carhuaz Condori	17	16	17
PROMEDIO			17

La sustentante alcanzó el promedio de 17 aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso de la sustentante y el público al Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga dando a conocer los resultados e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las seis de la noche con veinte minutos; firmando al pie del presente en señal de conformidad.


Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista
Presidente


Dr. Jesús Javier Ñaccha Urbano
Miembro – jurado


Mg. Jime Jack Rivera Villar
Miembro – jurado


Dr. Raúl Antonio Mamani Aycachi
Miembro – asesor


Mg. Roxana Karen Carhuaz Condori
Miembro – jurado
Secretario Docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA - ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

N° 024-2025-FCB-D

Yo, FIDEL RODOLFO MUJICA LENGUA, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Cuantificación del contenido de fenoles, flavonoides y alcaloides totales en extracto etanólico de *Argemone mexicana* L. "cardo santo", Ayacucho-2024**, por JENIFFER REGINA ROMANI GARCÍA; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 15%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-CU.

En consecuencia, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 02 de junio de 2025.


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela Profesional de Biología
Dr. Fidel R. Mujica Lengua
DIRECTOR

Cuantificación del contenido de
fenoles, flavonoides y
alcaloides totales en extracto
etanólico de Argemone
mexicana L. “cardo santo”,
Ayacucho-2024

por JENIFFER REGINA ROMANI GARCIA

Fecha de entrega: 29-may-2025 08:28p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2687991020

Nombre del archivo: ROMANI_GARCIA-Jeniffer-pregrado-2025_TURNITIN_1.docx (389.73K)

Total de palabras: 8810

Total de caracteres: 48507

Cuantificación del contenido de fenoles, flavonoides y alcaloides totales en extracto etanólico de Argemone mexicana L. "cardo santo", Ayacucho-2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

15%	14%	1%	6%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	www.zaragoza.unam.mx Fuente de Internet	4%
2	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	4%
3	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	3%
4	repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	1%
6	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	1%
7	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
8	ri-ng.uaq.mx Fuente de Internet	<1%
9	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	<1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 30 words

Excluir bibliografía

Activo