

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA



Contenido de fenoles totales y flavonoides totales en  
*Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia*  
R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl "matico".

Ayacucho - 2014.

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACEÚTICA

PRESENTADO POR:

**Bach. VALDEZ PALOMINO, ROSARIO DEL PILAR**

AYACUCHO – PERÚ

2014

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS  
R.D.N° 157-2014-FCB-D**

**Bach: Valdez Palomino, Rosario del Pilar**

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde, en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, el día 24 de octubre del año dosmilcatorce, reunidos los miembros del jurado evaluador, presidido por el Mg. José Manuel Diez Macavilca, encargado mediante el memorando N° 025-2014-JDA-FCB-UNSCH e integrado por el Mg. Hugo Roberto Luna Molero, Mg. Enrique Javier Aguilar Felices y Blgo. Elbert Hermoza Valdivia, además este último de los nombrados como secretario docente, con la finalidad de recepcionar en acto público la Tesis Titulada Contenido de fenoles totales y flavonoides totales en *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl "matico" Ayacucho 2014, presentado por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica Rosario del Pilar Valdez Palomino quien pretende obter el Título profesional de Químico Farmacéutica.

Antes de dar inicio con el acto de sustentación se da a conocer el expediente presentado por la interesada y estando todo conforme el Sr. Presidente del jurado evaluador prof. José Diez Macavilca después de dar algunas palabras autoriza a la sustentante de inicio con su exposición en un tiempo no mayor a 45 minutos que es de reglamento. Inmediatamente la sustentante da inicio con su exposición, después de agradecer a la Universidad, facultad, docentes y familiares.

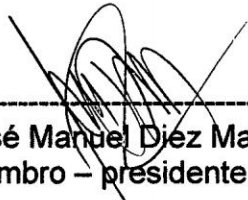
Concluida con su exposición, el presidente del jurado evaluador pide a los miembros del jurado puedan realizar sus consultas o aclaraciones que crean necesarias, a los mismos que la Srta. sustentante da respuesta en forma satisfactoria.

Terminada la ronda de preguntas, el presidente del jurado evaluador pide a la sustentante y público asistente puedan desocupar el ambiente con la finalidad de efectuar la calificación y discusiones respectivas, la misma que concluye de la sigte forma.

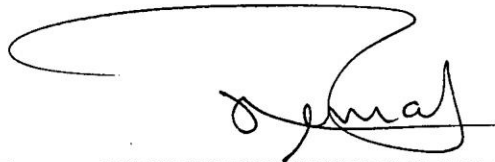
Miembro jurado	Exposición	Respuesta	Promedio
Mg. José Manuel Diez Macavilca	19	19	19
Mg. Hugo Roberto Luna Molero	19	19	19
Mg. Enrique Javier Aguilar Felices	17	17	17
Blgo. Elbert Hermoza Valdivia	17	17	17
		Promedio	18

Habiendo obtenido la nota de dieciocho (18) que resulta ser aprobatoria, invitándose a la sustentante y público puedan ingresar al ambiente con la finalidad de dar a conocer el resultado y entregar la medalla y efectuar la juramentación de rigor a la nueva profesional en Farmacia y Bioquímica.

Un vez concluida con el proceso de sustentación los miembros del jurado evaluador firman al pie del presente en conformidad del mismo concluye siendo las cinco con treintaicinco minutos.



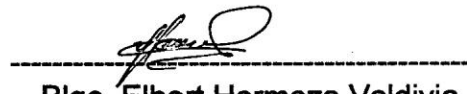
Mg. José Manuel Diez Macavilca  
Miembro – presidente (e)



Mg. Hugo Roberto Luna Molero  
Miembro



Mg. Enrique Javier Aguilar Felices  
Miembro - Asesor



Blgo. Elbert Hermoza Valdivia  
Miembro sec.docente

## **DEDICATORIA**

A Dios.

A mi madre, mi hermana, mis abuelos Inocencio y Justina, a Juan Carlos y mis tíos Lucho, Gladys, Zayda, Orlando, Percy y Nancy.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi *Alma Mater* Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por haberme albergado cinco años en sus aulas y por ser la forjadora de excelentes profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, y a los excelentes docentes que en ella laboran, los cuales contribuyeron en mi formación y por brindarme las herramientas necesarias para mi desenvolvimiento profesional.

Un reconocimiento especial a mis asesores Mg. Q.F. Enrique Aguilar Felices y Q.F. Roxana León Aronés, por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia que hicieron posible el desarrollo y culminación de esta investigación.

A todas las personas por el apoyo brindado en la ejecución de mi trabajo y por estar siempre conmigo.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes del estudio	4
2.2. Clasificación taxonómica según el sistema Cronquist A. 1988	6
2.3. <i>Oenothera rosea</i> Ait “yawar suqu”, <i>Piper elongatum</i> Vahl “matico” y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P “chilca”.	7
2.4. Compuestos fenólicos	9
III. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	14
3.2. Definición de población y muestra	14
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	15
3.4. Análisis de datos	17
IV. RESULTADOS	18
V. DISCUSIÓN	23
VI. CONCLUSIONES	29
VII. RECOMENDACIONES	30
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
ANEXOS	31

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en los extractos hidroalcohólicos de las hojas y flores de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico".	19
Tabla 2. Certificado de identificación botánica de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico".	36
Tabla 3. Análisis de varianza del porcentaje de fenoles totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca".	58
Tabla 4. Prueba de Tukey para el porcentaje de fenoles totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca".	59
Tabla 5. Análisis de varianza del porcentaje de fenoles totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca".	60
Tabla 6. Prueba de Tukey para el porcentaje de flavonoides totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca".	61
Tabla 7. Porcentaje de fenoles y flavonoides totales y desviación estándar de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca".	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura del ácido benzoico	10
Figura 2. Estructura del ácido cinámico	11
Figura 3. Núcleo básico de los flavonoides	12
Figura 4. Clasificación de los flavonoides	12
Figura 5. Porcentaje de fenoles totales presentes en <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico".	20
Figura 6. Porcentaje de flavonoides totales presentes en <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico".	21
Figura 7. Variación del porcentaje de fenoles y flavonoides totales presentes en <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico".	22

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de identificación botánica de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu". Ayacucho – 2014.	36
Anexo 2. Certificado de identificación botánica de <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico". Ayacucho -2014.	37
Anexo 3. Certificado de identificación botánica de <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca". Ayacucho - 2014	38
Anexo 4. Flujograma del procedimiento de cuantificación de fenoles y flavonoides totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico". Ayacucho – 2014.	39
Anexo 5. Hojas y flores de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu" (a), <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" (b) y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" (c). Ayacucho – 2014.	40
Anexo 6. Hojas y flores trituradas de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu" (a), <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" (b) y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" (c). Ayacucho – 2014.	41
Anexo 7. Extracción hidroalcohólica mediante el equipo Soxhlet de las hojas y flores trituradas de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu" (a), <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" (b) y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" (c). Ayacucho – 2014.	42
Anexo 8. Concentración de los extractos hidroalcohólicos de las hojas y flores de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu" (a), <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" (b) y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" (c). Ayacucho – 2014.	43
Anexo 9. Extractos secos de las hojas y flores de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu" (a), <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" (b) y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" (c). Ayacucho – 2014.	44
Anexo 10. Reconstitución con metanol de los extractos de las hojas y flores de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico". Ayacucho – 2014.	45

Anexo 11.	Esquema de las reacciones para la identificación de metabolitos secundarios de los extractos hidroalcoholicos de <i>Oenothera rosea</i> Ait “yawar suqu”, <i>Baccharis salicifolia</i> R&P “chilca” y <i>Piper elongatum</i> Vahl “matico”. Ayacucho - 2014	46
Anexo 12.	Marcha fitoquímica e identificación de catequinas de los extractos hidroalcoholicos de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico” (a,2), <i>Oenothera rosea</i> Ait “yawar suqu” (b,3) y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P “chilca”(c,1). Ayacucho – 2014.	47
Anexo 13.	Reactivos usados en la determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides totales de las hojas y flores de <i>Oenothera rosea</i> Ait “yawar suqu”, <i>Baccharis salicifolia</i> R&P “chilca” y <i>Piper elongatum</i> Vahl “matico”. Ayacucho – 2014.	48
Anexo 14.	Preparación de los estándares de quercetina y ácido caféico a diferentes concentraciones. Ayacucho – 2014.	49
Anexo 15.	Soluciones de quercetina y ácido caféico, después de agregar los reactivos correspondientes para obtener la curva de calibración de fenoles totales y flavonoides totales. Ayacucho – 2014.	50
Anexo 16.	Lectura de las soluciones de quercetina y ácido caféico en el espectrofotómetro UV, en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho-2014.	51
Anexo 17.	Preparación de reactivos usados para la determinación de fenoles totales y flavonoides totales. (a) Bicarbonato de sodio al 7%, (b) Folin Ciocalteu, (c) Nitrito de sodio al 5%, (d) Cloruro de aluminio al 10%, (e) Hidróxido de sodio 1M. Ayacucho – 2014.	52
Anexo 18.	Preparación para determinar fenoles totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait “yawar suqu”, <i>Piper elongatum</i> Vahl “matico” y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P “chilca”. Ayacucho – 2014.	53
Anexo 19.	Lectura en el espectrofotómetro UV de las soluciones de <i>Oenothera rosea</i> Ait “yawar suqu”, <i>Piper elongatum</i> Vahl “matico” y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P “chilca” para determinar fenoles totales. Ayacucho – 2014.	54
Anexo 20.	Preparación para determinar flavonoides totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait “yawar suqu”, <i>Piper elongatum</i> Vahl	

	"matico" y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca". Ayacucho – 2014.	55
Anexo 21.	Lectura en el espectrofotómetro UV de las soluciones de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" para determinar flavonoides totales. Ayacucho – 2014.	56
Anexo 22.	Curva de calibración utilizando ácido caféico como estándar a 550 nm. Ayacucho-2014.	57
Anexo 23.	Curva de calibración utilizando quercetina como estándar a 510 nm. Ayacucho-2014.	58
Anexo 24.	Análisis de varianza del porcentaje de fenoles totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca".	59
Anexo 25.	Prueba de Tukey para el porcentaje de fenoles totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca".	60
Anexo 26.	Análisis de varianza del porcentaje de flavonoides totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca".	61
Anexo 27.	Prueba de Tukey para el porcentaje de flavonoides totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca".	62
Anexo 28.	Porcentaje de fenoles y flavonoides totales y desviación estándar de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" y <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca".	63
Anexo 29.	Matriz de consistencia. Ayacucho-2014.	64

## RESUMEN

Los compuestos fenólicos, entre los cuales se encuentran los ácidos fenólicos y flavonoides, presentan una amplia ubicuidad en la naturaleza. Los ácidos fenólicos tienen gran importancia debido a su amplia actividad biológica ya que son: antioxidantes, antivirales, antitumorales, hepatoprotectores y antiinflamatorios. Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH con el objetivo de cuantificar fenoles totales y flavonoides totales de *Oenothera rosea* Ait. "yawar suqu", *Piper elongatum* Vahl. "matico" y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca", durante los meses de marzo a agosto del 2014. Las muestras fueron recolectadas en el distrito de Huamanguilla y la provincia de Cangallo del departamento de Ayacucho. La identificación taxonómica se realizó en el *Herbarium Huamangensis* de la UNSCH según el sistema de Clasificación de Cronquist. A. El extracto hidroalcohólico se obtuvo mediante el método Soxhlet. Se realizó el tamizaje fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos mediante reacciones de coloración y precipitación según el procedimiento descrito por Miranda y Cuellar. El contenido de flavonoides totales y fenoles totales se realizó mediante los métodos de Zhishen *et al* y Singletón y Rossi. Es así que se compara el contenido de fenoles y flavonoides totales de las tres muestras, en equivalentes de ácido caféico y quercetina. *Baccharis salicifolia* R&P "chilca", presentó 12,62%, *Oenothera rosea* Ait. "yawar suqu" 6,42% y *Piper elongatum* Vahl. "matico" 3,88% de fenoles totales. El contenido de flavonoides fue *Oenothera rosea* Ait. "yawar suqu" 8,32%, *Piper elongatum* Vahl. "matico" 6,21% y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" 9,96%.

Se concluye que *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" presentó cantidades superiores de fenoles y flavonoides totales frente a *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", y *Piper elongatum* Vahl "matico".

**Palabras clave:** Compuestos fenólicos, flavonoides, *Oenothera rosea* Ait, *Piper elongatum* Vahl, *Baccharis salicifolia* R&P.

## I.INTRODUCCIÓN

Hay unas ocho mil plantas naturales con compuestos fenólicos y aproximadamente la mitad de este número son flavonoides<sup>1</sup>. Los fenoles poseen un amplio espectro de actividades bioquímicas como antioxidante, antimutagénica, anticancerígenos<sup>2</sup>. Los compuestos fenólicos son el grupo más grande de los fitoquímicos que representan la mayor parte de la actividad antioxidante en las plantas<sup>3</sup>.

Los flavonoides son el grupo químico más grande de origen natural, que se producen en partes de diferentes plantas tanto en estado libre como glucósidos. Se encuentran al tener muchas actividades como; antiulcerosos, antiartríticos, anticancerígenas, etc<sup>4</sup>. Las flavonas y flavonoles son los más ampliamente distribuidos de todos los compuestos fenólicos<sup>5</sup>.

Además, los compuestos fenólicos son metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas y actúan como agentes protectores frente a patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa a condiciones de estrés; tales como infecciones, radiaciones UV, entre otros<sup>6</sup>. Los flavonoides, una clase de metabolitos aromáticos ampliamente distribuidos en la naturaleza, poseen una gran variedad de efectos biológicos entre los que sobresale la actividad antiinflamatoria<sup>7</sup> *Baccharis salicifolia* R&P "chilca", se

utiliza tradicionalmente como antiinflamatorio en varios países, como: Colombia, Ecuador, Perú, Argentina y Bolivia<sup>8,9</sup>.

De una revisión profunda de los estudios químicos y biológicos realizados en esta especie se reporta la actividad antiinflamatoria *in vitro* sobre varios mediadores de inflamación<sup>10</sup>. Sobre esta base se realizaron varios estudios que demostraron la presencia de flavonoides en las partes aéreas de la planta<sup>11, 12</sup>.

*Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", se utiliza ampliamente en la medicina tradicional peruana por sus efectos antiinflamatorios, antitusígeno, antirreumático, etc<sup>13</sup>. El estudio fitoquímico del extracto etanólico de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", reporta la presencia de metabolitos secundarios como: flavonoides, taninos, cumarinas, quinonas y saponinas<sup>14</sup>. Estudios realizados han informado que los resultados del edema subplantar, inducido por carragenina, demuestran que el extracto hidroalcohólico de yawar suqu posee efecto antiinflamatorio<sup>14</sup>.

*Piper elongatum* Vahl "matico", en la medicina tradicional es usado como antiinflamatorio, hemostático, antiséptico<sup>13</sup>.

Se ha reportado que en su composición presenta aceites esenciales, ácido artánico, resinas, sustancias amargas (maticina), taninos, alcaloides, saponinas, flavonoides triterpenoides<sup>15</sup>.

Las especies *Baccharis salicifolia* R&P "chilca", *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu" y *Piper elongatum* Vahl "matico", son usados ampliamente en el departamento de Ayacucho, por su actividad antiinflamatoria, es por tal motivo que se propuso realizar la presente investigación para determinar el contenido de fenoles y flavonoides totales; compuestos que están estrechamente relacionados con la actividad antiinflamatoria.

Por estas consideraciones, los objetivos del presente trabajo de investigación fueron los siguientes.

**Objetivo General:**

Realizar la cuantificación de fenoles totales y flavonoides totales de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl "matico".

**Objetivos Específicos:**

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en los extractos hidroalcohólicos de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl "matico".
- Realizar la cuantificación de fenoles totales de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl "matico".
- Realizar la cuantificación de flavonoides totales *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl "matico".
- Realizar la comparación del contenido de fenoles totales y flavonoides totales de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl "matico".

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes del estudio

García *et al*, realizaron el estudio denominado compuestos fenólicos totales, flavonoides y actividad antioxidante en las flores de *Cratagus spp* de México. La actividad antioxidante, se midió con el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) y los flavonoides se identificaron con HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Performance), la quercetina-3-O-glucósido, quercetina-3-ramnosido, quercetina-3-O-ramnosil-(1,6)-glucósido y quercetina-3-O-ramnosil-(1,2)-ramnosil-(1,6)-glucósido. El contenido de fenólicos fue mayor que los flavonoides<sup>16</sup>.

Espinoza *et al*, realizaron el estudio denominado determinación de fenoles totales, fructanos y pungencia en seis cultivares de ajos (*Allium sativum* L.) en el Perú, teniendo como resultado que los niveles de fenoles totales, fructanos, ácido pirúvico (pungencia) y pH varían en un rango de 0,307-0,626 mg de ácido gálico por gramo de muestra fresca, 16,13 - 22,50 gramos de fructano por 100 gramos de muestra fresca; 55,13 - 86,21  $\mu\text{mol}$  de ácido pirúvico por gramo de muestra fresca, y 6,01-6,10 de pH<sup>17</sup>.

Llano *et al*, evaluaron la actividad antioxidante y contenido de fenoles totales, en vinos de origen nacional (Argentina), los principales compuestos fenólicos; son el ácido caféico, epicatequina, ácido gálico, cianidina, malvidina-3-glucósido, rutina,

miracetina, quercetina, resveratrol. Estos fenoles, además de contribuir a las características organolépticas del vino, poseen en mayor o menor grado propiedades antioxidantes<sup>18</sup>.

Palomino *et al*, determinaron el contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia). Las determinaciones para el contenido total de compuestos fenólicos se encuentran entre 22,11 +/- 0,54 y 75,22 +/- 1,35 mg de ácido gálico por gramo de extracto etanólico, y para el contenido total de flavonoides entre 4,75 +/- 0,01 y 34,50 +/- 0,07 mg de quercetina por gramo de extracto etanólico. La actividad antioxidante varía entre 33,9 +/- 9,7 y 324,6 +/- 15,0 y entre 455,5 +/- 7,8 y 1,091 +/- 17,3  $\mu$ mol de equivalentes Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico) por gramo de extracto etanólico<sup>19</sup>.

Muñoz *et al*, estudiaron el contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mieles chilenas e índice antioxidante, dando como resultado que los principales flavonoides detectados fueron la pinocembrina, pinobanksina, quercetina, kaempferol, criserina, galanginas y otras dos flavonas no identificadas, en tanto el contenido de fenoles totales fue 8,83 mg por cien gramos de miel de la región metropolitana (Chile central), la actividad antioxidante dió 1,77  $\mu$ mol Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico) por gramo de muestra<sup>20</sup>.

Zavaleta *et al*, determinaron la capacidad antioxidante y el contenido de los principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. Dando como mayor resultado de ácido clorogénico en el huacatay (16,60 mg por gramo) y el sachaculantro (15,99 mg por gramo) en las demás especies se encontraron cantidades mínimas. Mayor concentración de ácido caféico presentaron el huacatay (3,98 mg por gramo) y el sachaculantro (0,95 mg por gramo). El flavonoide rutina se presentó en mayor concentración en el sachaculantro (288,7  $\mu$ g por gramo), el huacatay (1,80 mg por gramo) y el olluco (142,22  $\mu$ g por

gramo), la capacidad antioxidante fue para el huacatay (9,44 mg/ml), seguido por el aguaymanto (41 mg/ml), pituca (95,53 mg/ml), el tumbo (101,1 mg/ml), sachapapa morada (109,27 mg/ml), sachatomate (140 mg/ml), olluco (147,29 mg/ml), sachaculantro (213,86 mg/ml)<sup>21</sup>.

Aún en la actualidad, cientos de plantas, son utilizadas en la medicina pero la ciencia moderna, analizando y estudiando los efectos terapéuticos de las plantas, quiere precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, no con el fin de disminuir esta confianza sino para agrupar a plantas con efectos similares, para conocer los principios activos responsables de cortar, aliviar o curar enfermedades, separarlos de las plantas que los contienen, determinar sus estructuras químicas, procurar su síntesis, proponer modificaciones estructurales en busca de una mayor actividad y, finalmente, dar a conocer a la humanidad los resultados de los estudios<sup>13</sup>.

## **2.2. Clasificación taxonómica según el sistema Cronquist. A. 1988.**

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Sub Clase	:	Rosidae
Orden	:	Myrtales
Familia	:	Onagraceae
Género	:	Oenothera
Especie	:	<i>Oenothera rosea</i> Ait.

Nombre vulgar	:	“yawar suqu”, “chupa sangre”
---------------	---	------------------------------

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Sub Clase	:	Magnolidae
Orden	:	Piperales

Familia	:	Piperaceae
Género	:	Piper
Especie	:	<i>Piper elongatum</i> Vahl
Nombre vulgar	:	“matico”
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Sub Clase	:	Asteridae
Orden	:	Asterales
Familia	:	Asteraceae
Género	:	Baccharis
Especie	:	<i>Baccharis salicifolia</i> R&P
Sinonimia	:	<i>Baccharis salicifolia</i> (kunth)
Nombre vulgar	:	“chilca”

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas (Anexo 1, 2 y 3).

**2.3. *Oenothera rosea* Ait. “yawar suqu”, *Piper elongatum* Vahl. “matico” y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”.**

**2.3.1. *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”**

**Descripción botánica.-** Planta herbácea, perenne, de más o menos 30 cm de alto, aunque existen arbustos que miden un metro o más, de raíz tuberosa. Tallo herbáceo, erecto o ascendente, simple o ramificado, coloreado de rojo violáceo. Hojas oblongo-lanceoladas, subenteras, irregularmente dentadas, de dos a cinco cm de longitud con peciolo delgado. Flores agrupadas en inflorescencia racimosas. Son hermafroditas, pedunculadas. Fruto ovoide de ocho a diez mm de longitud, extraídos con ocho costillas longitudinales y caras arrugadas<sup>13</sup>.

**Principales constituyentes químicos.-** Contiene sustancias fenólicas: ácido egálico, gálico, caféico, o-cumarínico, kaempferol, cianidina, glicósidos: rutina, isoquercetina; taninos, mucílago, antocianinas, resinas, saponinas esteroides y/o triterpenoides<sup>13</sup>.

**Uso en medicina tradicional.-** Es conocida vulgarmente como chupasangre en la medicina tradicional peruana; es utilizada para diferentes tratamientos como: antiinflamatorio, para la neumonía, gonorrea y para nuestro interés, en hinchazones por su uso para absorber la sangre de los hematomas provocados por golpes y contusiones<sup>22</sup>.

### **2.3.2. *Piper elongatum* Vahl. “matico”**

**Descripción botánica.-** Arbusto perenne de 2 a 2,5 metros de alto. Tallo herbáceo, dicotómico con numerosas ramas delgadas con nudos salientes y vellosidades, longitudinalmente estriado. Hojas simples, grandes, con peciolo corto, de superficie áspera, muy reticulado de color verde intenso. Flores pequeñas numerosas, hermafroditas, corola blanca. Fruta drupa, pequeña, de forma ovoide<sup>13</sup>.

**Principales constituyentes químicos.-** Contiene aceites esenciales, resinas, sustancias amargas (maticina), taninos, alcaloides, saponinas, flavonoides triterpenoides<sup>15</sup>.

**Uso en medicina tradicional.-** Sus propiedades terapéuticas son hemostáticos, antiinflamatorios, en tratamientos dermatológicos y afecciones urinarias<sup>13</sup>.

### **2.3.3. *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”.**

**Descripción botánica.-** Arbusto de 1 a 1,5 metros de alto. Tallo muy ramificado, densamente folioso. Hojas simples, de disposición alterna, forma aovada espatulada. Inflorescencias, cabezuelas o capítulos numerosos, sésiles, cortamente pedunculados ya sea en las axilas de las hojas superiores o a lo

largo de las ramas terminales. Flores en escaso número con la corola algo filiforme<sup>13</sup>.

**Principales constituyentes químicos.-** Presenta los siguientes principios activos como, taninos, flavonoides triterpenoides y saponinas<sup>13</sup>.

**Uso en medicina tradicional.-** Se usa como analgésico, antirreumático, antiespasmódico y en tratamiento de fracturas<sup>13</sup>.

#### **2.4. Compuestos fenólicos**

Son metabolitos secundarios producidos por todas las plantas, son un grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos y que ocurren frecuentemente como glicósidos, combinados con unidades de azúcar<sup>15</sup>.

Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua, pueden ser detectados por el intenso color verde, azul o negro, que producen cuando se les agregan una solución acuosa o alcohólica al 1% de cloruro férrico<sup>15</sup>.

Además los compuestos fenólicos son utilizados para tratar enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios y desordenes cardiovasculares debido a la actividad que ejercen sobre el sistema circulatorio, mejorando la circulación periférica, la movilización del colesterol y disminuyendo la fragilidad capilar<sup>23</sup>.

##### **2.4.1. Clasificación**

Los polifenoles se pueden clasificar de muchas maneras debido a su diversidad estructural.

Según su estructura química tenemos dos grandes grupos<sup>24</sup>:

##### **Ácidos fenólicos.**

Derivados del ácido benzoico C6-C1 y ácido cinámico C6-C3<sup>24</sup>.

##### **Flavonoides (C6-C3-C6)**

Formados por dos grupos bencénicos unidos por un puente tricarbonado, antocianos, flavonas, flavononas, flavanoles, taninos condensados y lignanos<sup>24</sup>.

### 2.4.1.1 Ácidos fenólicos

Estos compuestos tienen una función carboxílica y un grupo hidroxílico fenólico, estos compuestos derivan del ácido benzoico (vanilina, ácido verátrico, ácido anísico, ácido gálico,) y del ácido cinámico (clorogénico, cafeico, ferúlico y sináptico, p-cumarico, elágico) <sup>25</sup>.

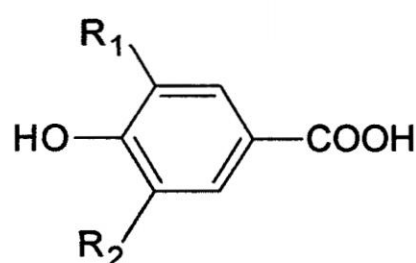
Algunos autores afirman que el ácido elágico tiene como función detectar y restaurar células carentes del gen P53, gen encargado de la apoptosis y del control de la proliferación celular responsable del cáncer<sup>26</sup>.

Los ácidos fenólicos tienen propiedades antisépticas, antiinflamatorias de los derivados salicílicos<sup>27</sup>.

Inhiben la 5-lipooxigenasa de granulocitos humanos, de ello resulta una inhibición en la formación de hidroperóxidos y leucotrienos que podrían justificar el empleo en el tratamiento de enfermedades inflamatorias o alérgicas<sup>27</sup>.

Los ácidos fenólicos tienen gran importancia debido a su amplia actividad biológica como son: antioxidantes, antivirales, antitumorales, antifúngicos, antimutagénicos, hepatoprotectores, antiinflamatorias<sup>28</sup>.

- **Ácidos fenólicos derivados del ácido benzoico**



R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	
H	H	ácido p-hidroxibenzoico
OCH <sub>3</sub>	H	ácido vanílico
OH	OH	ácido gálico
OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	ácido siríngico

Ácido p-hidroxibenzoico

Figura 1. Estructura de los ácidos benzoicos<sup>25</sup>.

- **Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico**

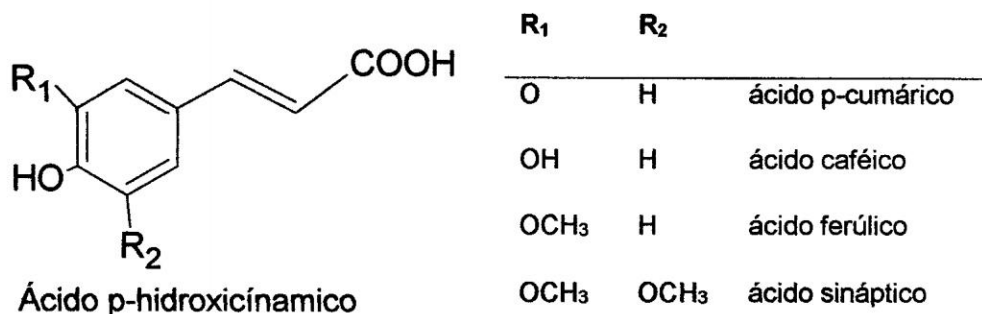


Figura 2. Estructura de los ácidos cinámicos<sup>25</sup>.

#### 2.4.1.2. Flavonoides

El término flavonoides denota un grupo muy amplio de compuestos polifenólicos caracterizados por una estructura benzopirano, los cuales están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y se encuentran de forma universal en las plantas vasculares, en forma de glicósidos. Químicamente, estas sustancias son de naturaleza fenólica y se caracterizan por poseer dos anillos aromáticos bencénicos unidos por un puente de tres átomos de carbono, con la estructura general C6-C3-C6, los cuales pueden formar o no un tercer anillo<sup>29</sup>.

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que los protegen del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc.

Estos contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos que tienen excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante. Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías como; la aterosclerosis o el cáncer.

Sus propiedades anti-radicales libres se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidroxilos, especies altamente reactivas. Se ha descrito su capacidad

de modificar la síntesis de eicosanoides (con respuestas antiinflamatoria), de prevenir la agregación plaquetaria (efectos antitrombóticos)<sup>30</sup>.

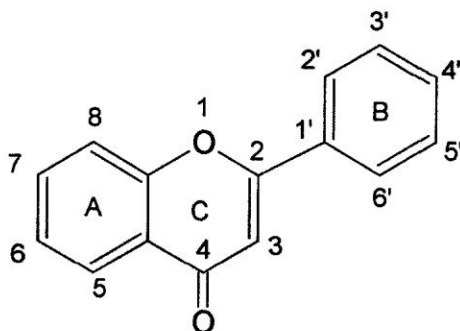


Figura 3. Núcleo básico de los flavonoides<sup>30</sup>.

### Clasificación

Los flavonoides se clasifican en varios grupos de acuerdo con las variantes estructurales que presentan: flavonas, flavonoles, flavanoles, isoflavonas y antocianidinas, con variada actividad farmacológica entre las que destacan: antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana, analgésica, antiespasmódica<sup>27, 31</sup>.

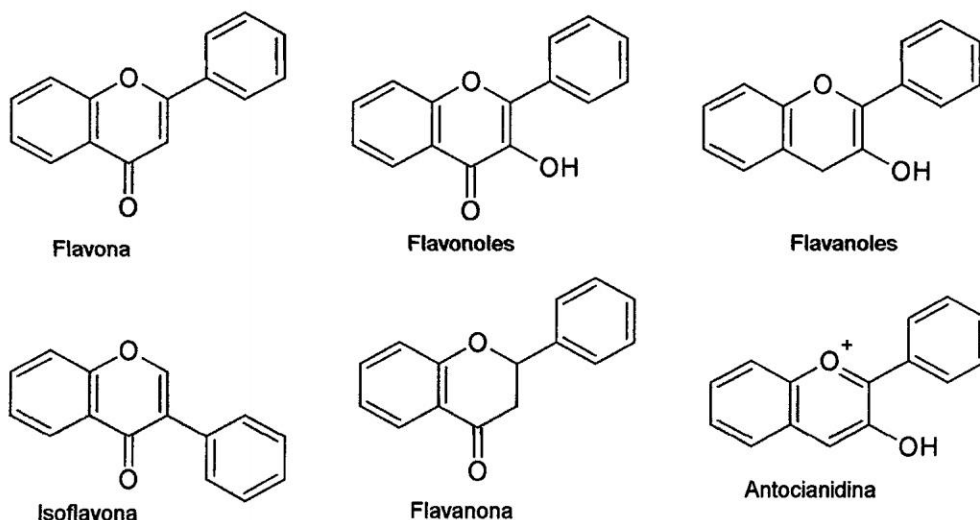


Figura 4. Clasificación de flavonoides<sup>32</sup>.

### Propiedades

Los flavonoides son sustancias sólidas cristalizadas de color blanco o amarillento. Son solubles en agua caliente, alcohol y disolventes orgánicos polares, siendo insolubles en los apolares. Sin embargo, cuando están en estado

libre, son poco solubles en agua, pero son solubles en disolventes orgánicos más o menos oxigenados, dependiendo de su polaridad. Por otro lado, son sustancias fácilmente oxidables y, por tanto, tienen efecto antioxidante, ya que se oxidan más rápidamente que otro tipo de sustancias<sup>33</sup>.

### **Actividad farmacológica**

Farmacológicamente, los flavonoides destacan por su baja toxicidad. Asimismo, tienen efecto antioxidante, poseen efectos antimutagénicos y tienen la capacidad de inhibir diversas enzimas. La acción antioxidante de los flavonoides depende principalmente de su capacidad de reducir radicales libres y quelar metales, impidiendo las reacciones catalizadoras de los radicales libres.

Por otro lado, los flavonoides ejercen otras acciones: diurética, antiespasmódica, antiulcerosa y antiinflamatoria<sup>33</sup>.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Farmacognosia del Área de Farmacia, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de marzo a agosto del 2014.

#### 3.2. Definición de la población y muestra

**Población:** Hojas y flores de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Piper elongatum* Vahl “matico”, (recolectadas del distrito de Huamanguilla, durante los meses de febrero a marzo, en estado de floración) y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” (recolectada en la provincia de Cangallo, durante los meses de febrero a marzo, en estado de floración) del departamento de Ayacucho.

**Muestra:** Cinco gramos de hojas y flores secas de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Piper elongatum* Vahl “matico” y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”.

#### 3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

**3.3.1. Recolección de la muestra:** Se procedió a recolectar aquellas hojas y flores que se encontraban en buen estado, mediante un muestreo por conveniencia, para luego lavarlas con la finalidad de eliminar sustancias contaminantes que puedan interferir con la investigación, después se

procedió a secarlos al medio ambiente por siete días, una parte de las muestras fueron llevadas al *Herbarium Huamangensis* de la UNSCH para la identificación taxonómica (Anexo 1, 2 y 3).

La muestra restante se molió haciendo uso de un mortero.

### **3.3.2. Preparación del extracto hidroalcohólico**

Se pesaron cinco gramos de hojas y flores secas *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl “matico”, las cuales fueron molidas en un mortero hasta su pulverización.

Las muestras secas y molidas fueron sometidas a extracción hidroalcohólica (20:80) con etanol al 96°, utilizando el equipo de Soxhlet (Anexo 7). Los extractos se concentraron a sequedad en un rotavapor Buchi 3000 (Anexo 8).

Los residuos secos fueron disueltos en 100 ml de metanol (Anexo 10).

Los extractos se utilizaran para el screening fitoquímico y la determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides totales.

### **3.3.3. Tamizaje fitoquímico**

Una vez obtenido el extracto hidroalcohólico se realizó las pruebas pertinentes para la identificación cualitativa de los principales grupos de metabolitos secundarios, se tomó un ml de cada extracto de la planta a la cual se le agregaron los reactivos correspondientes para generar reacciones simples específicas de coloración y precipitación<sup>34</sup>.(Anexo 11 y 12)

### **3.3.4. Determinación del contenido de fenoles totales**

El contenido de fenoles totales se determinó por el método colorimétrico de Singletón y Rossi<sup>35</sup>, con algunas modificaciones. (Anexo 18)

#### **Procedimiento:**

- Transferir un ml del extracto obtenido de cada muestra, en una fiola de 25 ml que contenga nueve ml de agua destilada.

- Seguidamente se agregó un ml de reactivo Folin-Ciocalteu (grado analítico Merck).
- Se agita y luego se deja en reposo por 5 minutos.
- Posteriormente se adiciona diez ml de carbonato de sodio al 7%, y se afora con agua destilada a 25 ml.
- Después de 90 minutos en la oscuridad a temperatura de ambiente se procede a realizar la lectura a una longitud de onda de 550 nm.
- Para realizar la curva de calibración se usa soluciones de estándar de ácido caféico a concentraciones entre 100-500 µg/ml, preparadas a las mismas condiciones antes mencionadas.
- Se prepara el blanco a las mismas condiciones que la muestra problema usando un ml de agua destilada.

### **3.3.5 Determinación del contenido de flavonoides totales**

El contenido de flavonoides totales en los extractos etanólicos se determinó por el método de Zhishen *et al*<sup>36</sup>. (Anexo 20)

#### **Procedimiento:**

- Transferir un ml de los extractos obtenidos, a una fiola de diez ml que contenga cuatro ml de agua destilada.
- Seguidamente se le adiciona 0,30 ml de nitrito de sodio al 5%.
- Después de 5 minutos se agrega 0,3 ml de cloruro de aluminio al 10%.
- Se deja transcurrir 5 minutos para agregar, dos ml de hidróxido de sodio 1M, se agita y afora a diez ml con agua destilada.
- Se realiza la lectura a una longitud de onda de 510 nm.
- Para la curva de calibración se usa soluciones de quercetina estándar a concentraciones entre 20-100 µg/ml.

- Se prepara el blanco a las mismas condiciones antes mencionadas usando un ml de agua destilada.

### **3.4. Análisis de datos**

Los resultados se expresan en forma de medias y desviación estándar, y son representados mediante gráficos en forma de histogramas. Las diferencias entre las medias son contrastadas mediante el Análisis de Varianza (ANOVA) a un nivel de confianza de 95% ( $p < 0,05$ ).

## **IV. RESULTADOS**

Tabla 1: Metabolitos secundarios presentes en los extractos hidroalcohólicos de las hojas y flores de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl "matico".

Metabolitos Secundarios	Especie			Observaciones
	<i>O. rosea</i> Ait	<i>B. salicifolia</i> R&P	<i>P. elongatum</i> Vahl	
Fenoles y/o taninos	+++	+++	+++	Coloración verde intensa
Flavonoides	+++	++	++	Fase amílca de color rojo intenso
Lactonas y/o cumarinas	++	++	+	Precipitado rojo
Catequinas	++	+++	+	Mancha verde carmelita a la luz UV
Alcaloides	++	++	+	Turbidez intensa
Alcaloides	+	+	+	Formación de precipitado
Triterpenos y/o esteroides	+	-	+	Coloración verde oscura

Leyenda :

- (-) : Ausente
- (+) : Leve
- (++) : Moderada
- (+++) : Abundante

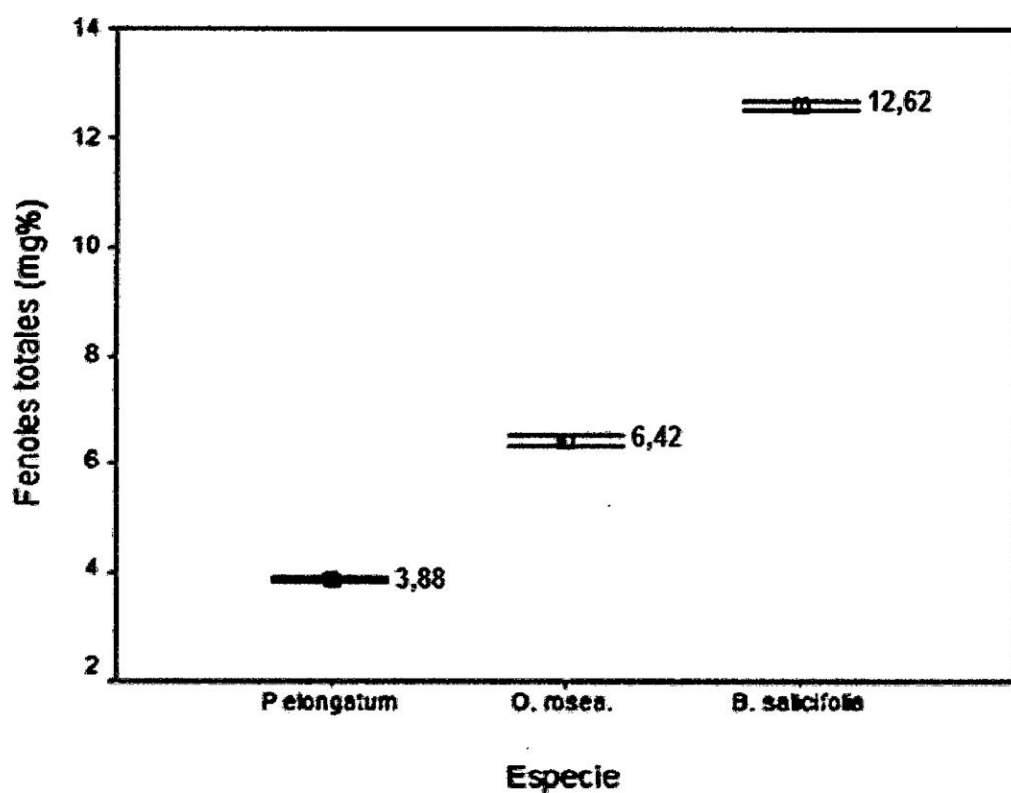


Figura 5. Porcentaje de fenoles totales presentes en *Piper elongatum* Vahl "matico", *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu" y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca". Ayacucho – 2014.

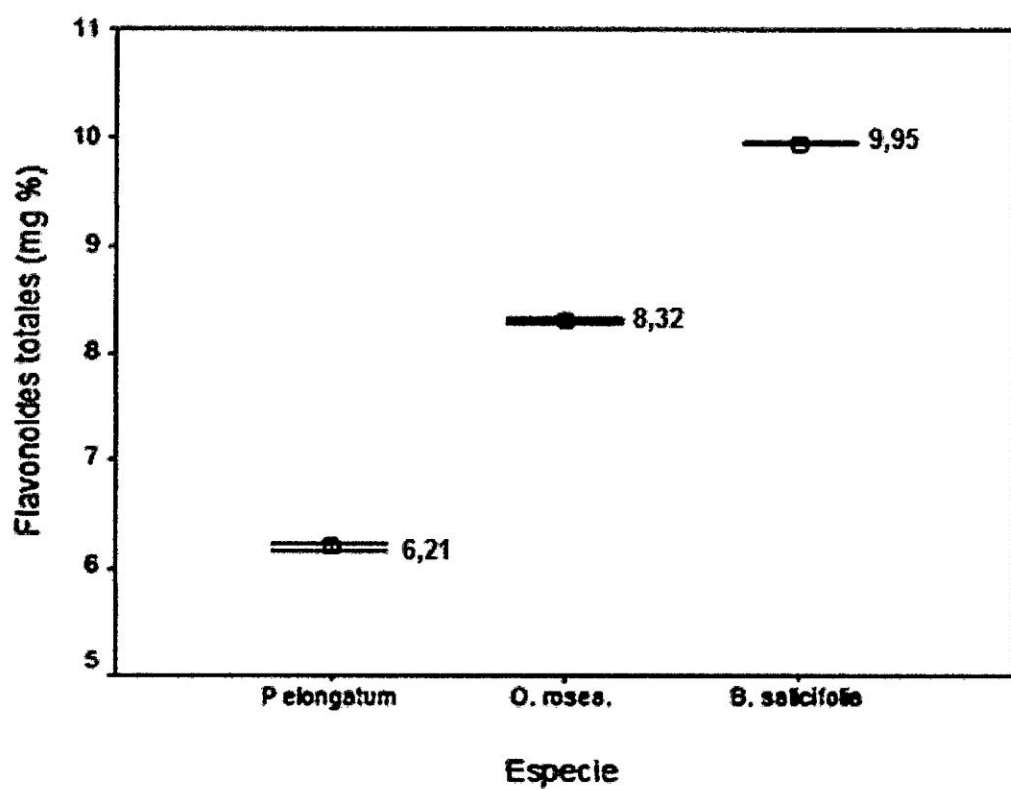


Figura 6. Porcentaje de flavonoides totales presentes en *Piper elongatum* Vahl "matico", *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu" y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca". Ayacucho – 2014.

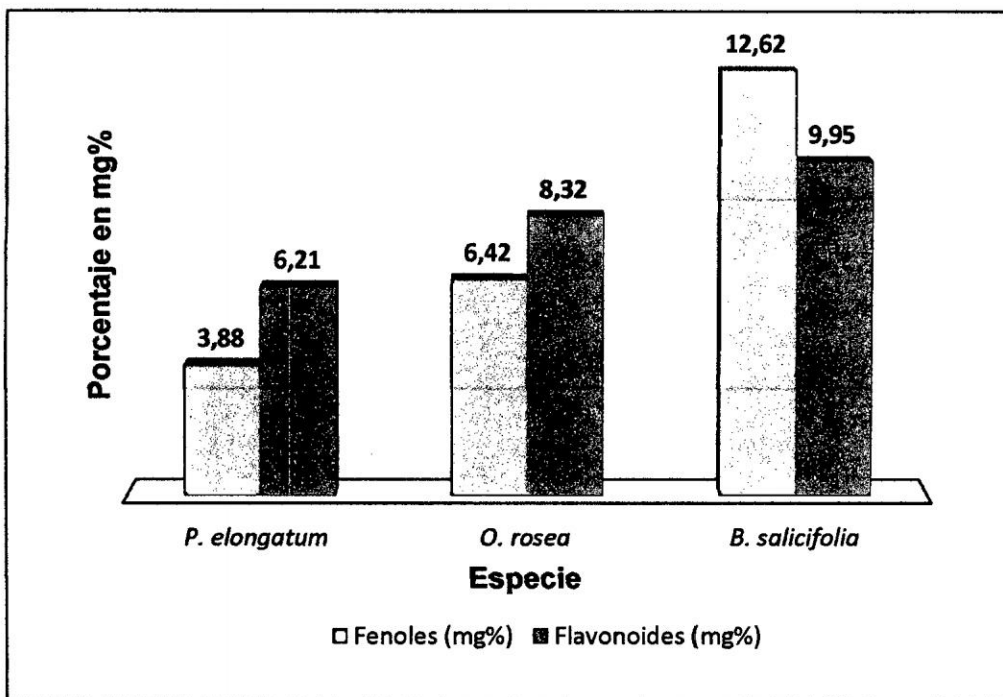


Figura 7. Variación del porcentaje de fenoles y flavonoides totales presentes en *Piper elongatum* Vahl "matico", *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu" y *Baccharis salicifolia* R&P. Ayacucho – 2014.

## V. DISCUSIÓN

La presente investigación se basó en la cuantificación de fenoles y flavonoides totales de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Piper elongatum* Vahl “matico” y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”, mediante el método de Singletón y Rossi<sup>35</sup>, y Zhishen *et al*<sup>36</sup>.

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras, propiedades químicas y actividad biológica, englobando más de ocho mil compuestos distintos.

Como antioxidantes, los polifenoles pueden proteger las células contra el daño oxidativo y por lo tanto limitar el riesgo de varias enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo causado por los radicales libres<sup>30, 37</sup>.

Para obtener el extracto hidroalcohólico se realizó mediante el método de Soxhlet, que se define como la acción de separar con un líquido una fracción específica de una muestra, dejando el resto lo más íntegro posible<sup>38</sup>.

En el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico desarrollado según la técnica de Miranda y Cuellar<sup>34</sup>, se reporta la presencia de los metabolitos secundarios como: fenoles y/o taninos, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, catequinas, alcaloides, triterpenos y/o esteroides (Tabla 1 y Anexo 11). Villena<sup>14</sup>, reporta para el caso de la *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, y menciona que

estos metabolitos secundarios presentan acción farmacológica como antiinflamatoria.

Los metabolitos secundarios que más se encontraron en *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Piper elongatum* Vahl “matico” y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”, fueron: en el primer caso se encontraron fenoles y/o taninos, flavonoides, catequinas, lactonas y/o cumarinas; en el matico se observó la presencia de fenoles y/ taninos, flavonoides y alcaloides; y finalmente en la chilca se encontraron fenoles y/o taninos, flavonoides, catequinas, lactonas y/o cumarinas, y alcaloides, los compuestos fenólicos pueden ser detectados por el intenso color verde, azul o negro que producen cuando se le agrega el cloruro férrico al 1%<sup>15</sup>. La muestra que reaccionó inmediatamente a este ensayo fue la *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”, que al agregar una gota del reactivo se produjo una coloración azul intensa, en el caso de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” y *Piper elongatum* Vahl “matico”, hubo un cambio de coloración a un azul intenso después de unos segundos de agregar el reactivo. Los compuestos fenólicos poseen propiedades como antiinflamatorias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorales, anticancerígenas y antioxidantes. De esta última, principalmente, radica su función en el sistema nervioso, pues se ha visto relación de protección en enfermedades neurodegenerativas<sup>39</sup>. Al realizar el ensayo de catequina se evidencia la fluorescencia verde a la luz UV, es así que al comparar las tres muestras se observa que la *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” obtuvo (+++), *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” (++) y *Piper elongatum* Vahl “matico” (+) respectivamente (Anexo 11). Con la reacción de Shinoda el cambio de color de amarillo a rojo indica la presencia de flavonas y flavonoles<sup>15</sup>, de esta manera al realizar el ensayo se diferencia las intensidades de la coloración rojo entre cada muestra dando como resultado que *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” fue la que obtuvo una coloración más intensa en comparación

con *Piper elongatum* Vahl "matico" y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca". El tamizaje fitoquímico es un ensayo previo de gran importancia para determinar cualitativamente la presencia de ciertos metabolitos secundarios presentes en muestras vegetales, dado que los ensayos como el de Shinoda y cloruro férrico que son específicos para compuestos fenólicos, dieron positivo en las tres muestras se continua con los ensayos para determinar cuantitativamente fenoles y flavonoides totales.

En el Anexo 22 se observa la curva de calibración del ácido caféico a 550 nm para determinar la cantidad de fenoles totales de las muestras, para obtener la ecuación se prepararon soluciones de ácido caféico a 100, 200, 300, 400 y 500 µg/ml (Anexo 14), de igual manera en la Figura 28 se muestra la curva de calibración de quercetina a 510 nm, en este caso las soluciones del estándar fueron preparadas a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 µg/ml (Anexo 14), a las cuales se le agregaron distintos reactivos necesarios para cuantificar fenoles y flavonoides totales (Anexo 13), que fueron preparados a las concentraciones según se indica en el método (Anexo 17), una vez obtenida las soluciones preparadas (Anexo 15) se hizo la lectura correspondiente a una longitud de onda de 550 nm y 510 (Anexo 16). La curva de calibración son gráficos que muestran la respuesta de un método analítico (Señal) en función de cantidades conocidas de analito (concentraciones)<sup>40</sup>.

El contenido de fenoles y flavonoides presenta una amplia ubicuidad en la naturaleza ya que son responsables del buen funcionamiento de las plantas y, en su relación con el hombre ya que son utilizados para tratar enfermedades como ciertos cánceres y desordenes cardíacos por su actividad antioxidante; el consumo promedio de fenoles en los países europeos se estima en 23 mg por día<sup>41</sup>.

Los métodos de Folin - Ciocalteau y de formación del complejo con  $AlCl_3$  para

determinar el contenido total de compuestos fenólicos y flavonoides, respectivamente, son comúnmente usados para analizar plantas y alimentos<sup>42</sup>. En el presente estudio, estos métodos se aplicaron para determinar el contenido de fenoles y flavonoides totales en tres muestras vegetales de la región de Ayacucho.

En el Anexo 18, se muestra las preparaciones del blanco y las tres muestras por triplicado para determinar el contenido de fenoles totales, las cuales se dejaron que reaccionen durante 90 minutos a temperatura de ambiente para luego realizar las lecturas correspondientes a una longitud de onda de 550 nm (Anexo 19), la cual se acondicionó con un blanco que fue preparado a las mismas condiciones que las muestras.

En la Figura 5 y Tabla 7, se muestra el porcentaje de fenoles totales de cada muestra en estudio, en los resultados obtenidos se observa que por lo menos todos los extractos contienen compuestos fenólicos en cantidades significativas, siendo de esta manera y comparando las tres especies se observa que el contenido de fenoles entre el extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu" y *Piper elongatum* Vahl "matico", presentaron porcentajes de 6,42% +/- 0,433 y 3,88% +/- 0,469. Por otra parte *Baccharis salicifolia* R&P "chilca", es el que posee el mayor porcentaje de fenoles siendo de 12,62% +/- 0,220, superando los valores encontrados en las otras dos especies. En el género *Baccharis*, Rojas<sup>43</sup>, ha reportado la presencia principalmente de compuestos fenólicos y flavonoides.

García<sup>44</sup>, cuantificó fenoles totales con el método de Folin-Ciocalteu en duraznos (*Prunus persica* L.) procedentes de tres diferentes zonas de cultivo. Las muestras del estado de Sonora fueron las que presentaron valores más altos, de fenoles totales (121 mg de ácido cafeico por 100 gramos peso fresco). Al igual que para determinar fenoles totales se prepararon el blanco y soluciones por

triplicado (Anexo 20), de los extractos hidroalcohólicos para determinar el contenido de flavonoides totales, en este caso se realizó las lecturas a una longitud de onda de 510 nm (Anexo 21), se preparó el blanco con la finalidad de acondicionar el espectrofotómetro UV- Vis.

En la Figura 6 y Tabla 7, se observa la variación del promedio en porcentaje de flavonoides totales, se aprecia que cada una de las muestras en estudio contienen cantidades significativas de este compuesto, así se compara las tres especies dando como resultado que *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu" y *Piper elongatum* Vahl "matico", presentaron cantidades de 8,32% +/- 0,153 y 6,21% +/- 0,091.

Por otra parte al igual que en la determinación del contenido de fenoles totales la especie *Baccharis salicifolia* R&P "chilca", fue la que presentó el más alto contenido de flavonoides totales (9,95% +/- 0,058), superando a las dos especies antes mencionadas. En la prueba de Shinoda en un estudio reportado por Rojas<sup>43</sup>, demuestra que el género *Baccharis* contiene cantidades significativas de flavonoides.

De la Rosa<sup>45</sup>, cuantificaron los flavonoides totales del extracto metanólico de la semilla de *Glycine max* "soya", expresados como quercetina por espectrofotometría UV-Vis, el contenido de flavonoides totales fue 16,53% de quercetina.

En la Figura 7, se observa la comparación del porcentaje de fenoles y flavonoides totales de las tres muestras en análisis, lo cual demuestra que el extracto hidroalcohólico de *Baccharis salicifolia* R&P "chilca", es la muestra vegetal que posee mayores cantidades de estos dos componentes químicos presentes en las plantas. Palacios<sup>13</sup>, en la especie *Baccharis lanceolata* Kth. ha reportado la presencia principalmente de flavonoides triterpenoides y esteroides, aminogrupos, taninos y saponinas. Es así que se pondría gran interés en esta

especie ya que los flavonoides ejercen acciones diuréticas, antiespasmódicas, antiulcerosa, antiinflamatorias y antioxidantes<sup>33</sup>.

El análisis de varianza, es una prueba estadística para analizar si más de dos grupos difieren significativamente entre sí en cuanto a sus medias y varianzas<sup>44</sup>.

El nivel de significancia es un nivel de la probabilidad de equivocarse y que fija de manera a priori el investigador. El nivel de significancia de 0,05, el cual implica que el investigador tiene 95% de seguridad para generalizar sin equivocarse y sólo 5% en contra<sup>46</sup>.

Del análisis estadístico, (Anexo 24 y 26), se demuestra que hay una diferencia significativa del contenido de fenoles y flavonoides totales entre las tres muestras vegetales, en la prueba de Tukey (Anexo 25 y 27), se demuestra que la cantidad de fenoles y flavonoides totales entre cada muestra son distintas.

Los factores ambientales parecen no influir en el contenido de compuestos fenólicos entre las especies, y las variaciones de los metabolitos pueden ser de origen genético<sup>47</sup>.

Con estos resultados obtenidos en la presente investigación se afirma que *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Piper elongatum* Vahl “matico” y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”, presentan cantidades significativas de fenoles y flavonoides totales.

## VI. CONCLUSIONES

1. Se realizó la cuantificación de fenoles totales y flavonoides totales en *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl "matico".
2. Los metabolitos secundarios de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl "matico", fueron: fenoles y/o taninos, catequinas, lactonas y/o cumarinas, triterpenos y/o esteroides, flavonoides y alcaloides en diferentes proporciones.
3. Los fenoles totales de *Oenothera rosea* Ait. "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl. "matico", fueron: 6,42%, 12,62% y 3,88%.
4. Los flavonoides totales en *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl. "matico", fueron: 8,32%, 9,96% y 6,21%.
5. Se comparó el contenido de fenoles totales y flavonoides totales de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl. "matico"; siendo así que la "chilca" presentó mayor contenido de los componentes en estudio.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Determinar mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) los diferentes tipos de compuestos fenólicos de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl “matico”.
2. Comparar el contenido de fenoles totales y flavonoides totales de *Oenothera rosea* Ait. “yawar suqu”, *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl. “matico” provenientes de distintos lugares del departamento de Ayacucho.
3. Determinar la fecha óptima de recolección de *Oenothera rosea* Ait. “yawar suqu”, *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl “matico”, para realizar la cuantificación de fenoles y flavonoides totales.
4. Determinar el método óptimo de extracción para la cuantificación de fenoles y flavonoides totales de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl “matico”.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Harborne. J B, Herbert. H. *Phytochemical Dictionary*, Taylor & Francis London, 1993.
2. Marinova. D, Ribarova. F, Atanassova. M. Total phenolics and total Flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables, *Journal of the University of Chemical Technology and metallurgy*. [revista en internet] 2005.[acceso enero 2014]; 40, (3): 255-260. Disponible en: <http://www.researchgate.net/publication/258769164>
3. Sulaiman. C. T, Sadashiva. C. T, Satheesh. George, Goplakrishnan. V. K, Indira Balachandran. Chromatographic studies and in vitro screening for acetyl cholinesterase inhibition and antioxidant activity of three acacia species from south India. *Analytical Chemistry Letters*. [revista en internet] 2013.[acceso enero 2014];3:2, 111-118. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/22297928.2013.806405#.VFgEKvmG9ws>
4. Sulaiman CT, and Indira Balachandran. Total phenolics and total flavonoids in selected Indian medicinal plants. *Indian J. Pharm.Sci*. [revista en internet] 2012.[acceso febrero 2014]; 74(3), 258-260. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3574537/>
5. Peter. B, Kaufman, Leland. J, Warber CS, James A, Harry DL, Briemann, *Natural products from Plants*, CRC Press London, 1999.
6. Soler Cantero A. Capacidad antioxidante y la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos del aceite de oliva. Primeras etapas en el desarrollo de un aceite de oliva funcional [tesis doctoral]. Universidad de Lleida, 2009.
7. Gerritsen ME, Carley WW, Ranges GE, Shen CP, Phan SA, Ligon GF, Perry CA. Flavonoids inhibit cytokine-induced endothelial cell adhesion protein gene expression. *Am J Pathol. The american journal of pathology*. [revista en internet] 1995. [acceso mayo 2014]; 147: 278 - 292. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1869822/>
8. Gupta MP. (Editor). *270 Plantas Medicinales Iberoamericanas*. 2ª ed. Bogota: Convenio Andrés Bello, Presencia; 1995
9. Correa JG, Bernal HY. *Compositae (Asteraceae) Baccharis latifolia*. En Correa JG, Bernal HY (ed). *Especies vegetales promisorias de los países del convenio Andrés Bello*. Tomo V: Editorial Guadalupe Ltda.; 1990.
10. Zdero C, Bohlmann F, Solomon JC, King R, Robinson H. Ent-clerodanes and other constituyents from bolivian *Baccharis* species. *Phytochemistry*. [revista en internet] 1989. [acceso abril-mayo 2014]; 28, 531-39. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0031942289800470>
11. Abad MJ, Besa AL, Ballarin B, Aragon O, Gonzales E, Bermejo P. Anti-inflammatory activity of four Bolivian *Baccharis* species (Compositae). *J Ethnopharm*. [revista en internet] 2006. [acceso mayo 2014]; 103, 338-44. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874105005441>
12. Salcedo L, Sterner O, Almanza G. Estudio fitoquímico de *Baccharis latifolia*. *Rev Bol Quím*. [revista en internet] 2001. [acceso mayo 2014]; 18,43-48. Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S1813-53632011000100009&script=sci\\_arttext](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S1813-53632011000100009&script=sci_arttext)
13. Palacios, J. *Plantas Medicinales Nativas del Perú*. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Concytec). Editorial Serie Ciencias Lima-Perú 1997.
14. Villena, C. Arroyo, J. Estudio sobre el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* (yawar socco) en ratas con inducción a la inflamación aguda y crónica. *Revista Ciencia e Investigación*. Facultad de

- Farmacia y Bioquímica de la UNMSM. Lima – Perú [Revista en internet] 2012 [acceso abril 2014].
15. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de los productos naturales. Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima. 1994.
  16. García, R. Aguilar, L. Soto, M. Nieto, R. Kite, G. Compuestos fenólicos totales, flavonoides y actividad antioxidante en las flores de *Crataegus spp.* De México. Revista Agrociencia [revista en internet] 2012 [acceso febrero 2014] vol 46, n° 7. Pp 65. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v46n7/v46n7a2.pdf>
  17. Espinoza, F. Rios, E. Elias, C. Fenoles totales, fructanos y pungencia en seis cultivares de ajos (*Allium Sativum* L.) en el Perú. Revista Sociedad Química Perú 76 (1) [revista en internet] 2010. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica. [acceso enero 2014]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v76n1/a11v76n1.pdf>
  18. Llano, A. Sgroppo, K. Avanzu, S. Jorge, R. Actividad antioxidante en fenoles totales en vinos de origen nacional. Revista Laboratorio de Tecnología Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Agrimensura – Argentina [revista en internet] 2009. [acceso enero 2014]; Disponible en: <http://www1.unne.edu.ar/cyt/2002/08-Exactas/E-014.pdf>
  19. Palomino, L. García, C. Gil, J. Rojano, B. Durango, D. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el Departamento de Antioquia (Colombia). Revista de la Facultad de Química Farmacéutica [revista en internet] 2009. [acceso enero 2014]; vol 16, n°3, pp 388-395. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-40042009000300013&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-40042009000300013&script=sci_arttext)
  20. Muñoz, O. Copaja, S. Contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mieles chilenas e índice antioxidante. Facultad de ciencias, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago-Chile. Revista Química Nova. [revista en internet] 2007. [acceso enero 2014]; vol 30, n° 4, 848-851. Disponible en: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422007000400017&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422007000400017&script=sci_arttext)
  21. Zavaleta, J. Muñoz, A. Blanco, T. Alvarado, C. Loja, B. Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. Centro de Investigación Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Martín de Porres. [revista en internet] 2008. [acceso enero 2014]; Disponible en: [http://usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2005\\_II/Art4\\_Vol5\\_N2.pdf](http://usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2005_II/Art4_Vol5_N2.pdf).
  22. Soria R. Estudio farmacobotánico de *Oenothera multicaulis* R&P. Tesis de Maestría en Recursos Vegetales y Terapéuticos - UNMSM, Lima, 1988.
  23. Soler Cantero A. Estudio de la capacidad antioxidante y la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos del aceite de oliva. Primeras etapas en el desarrollo de un aceite de oliva funcional [tesis doctoral]. Universidad de Lleida; 2009
  24. Gimeno E. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. Offarm, ámbito Farmacéutico nutrición [revista en internet] 2004. [acceso diciembre 2013]; 23(6). Disponible en: [http://apps.elsevier.es/watermark/ctl\\_servlet\\_f=10&pident\\_articulo=13063508&pident\\_usuario=0&pident\\_revista=4&fichero=4v23n06a13063508pdf001.pdf](http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet_f=10&pident_articulo=13063508&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v23n06a13063508pdf001.pdf)
  25. Villar del Fresno, A. Farmacognosia General. Editorial Síntesis. España. 1999.

26. Zapata k, Cortes F, Rojano B. Polifenoles y actividad antioxidante del fruto de guayaba agria (*Psidium araca*) alimentos y biotecnología [revista en internet] 2013. [acceso abril 2014]; 24(5): 1- 14. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071807642013000500012&script=sci\\_ar ttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071807642013000500012&script=sci_ar ttext)
27. Bruneton J. Plantas medicinales. Fitoquímica y Farmacognosia. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza-España. 2001
28. Edna A. Determinación del perfil de compuestos fenólicos en arazá (*Eugenia stipitata*). [tesis de maestría]. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D. C., Colombia. 2012
29. Cartaya O, Reynaldo I. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones revistas científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal [revista en internet] 2001. [acceso diciembre 2013]; Vol. 22, Núm.2,2001,Pp.5-14. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215009001>
30. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Revista nutricional Hosp [revista en internet] 2002. [acceso noviembre 2013]; 17 (6): 271-278. Disponible en: [http://www.recursosdeenologia.com/docs/2002/2002\\_los\\_flavonoides\\_propie dades-y\\_acciones\\_antioxidantes.pdf](http://www.recursosdeenologia.com/docs/2002/2002_los_flavonoides_propie dades-y_acciones_antioxidantes.pdf)
31. Kuklinski, C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Editorial Omega. Barcelona 2003.
32. Hollman PCH, Arts ICW. Flavonols, flavones and flavanols: Nature, ocurrence and dietaryburden. J Sci Food Agric. [revista en internet] 2000. [acceso febrero 2014]; 1487-1496. Disponible en: <http://www.europmc.org/abstract/AGR/IND22079368/reload=0;jsessionid=gCBU5iyUzFclzt7fSZ0.4>
33. López T. Fitoterapia, flavonoides, fitoquímica. Ámbito farmacéutico. [revista en internet] 2002.[acceso marzo 2014]; vol 21, n° 4. Offarm pp. 108. Disponible en: [http://apps.elsevier.es/watermark/ctl\\_servlet?\\_f=10&pident\\_art iculo=1302891&pident\\_usuario=0&pident\\_revista=4&fichero=4v21n04a13028 951pdf001.pdf&ty=119&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafar ma.com&lan=es](http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_art iculo=1302891&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v21n04a13028 951pdf001.pdf&ty=119&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafar ma.com&lan=es)
34. Miranda, M. Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y productos naturales. Universidad de la Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba 2000.
35. Singleton, V. Rossi, A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic. [revista en internet] 1965; [acceso abril 2014]; 16: 144-158. Disponible en: <http://ajevonline.org/content/16/3/144.abstract>
36. Zhishen, J. Mengcheng, T. Jianming, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food chem. [revista en internet] 1999.[acceso abril 2014]; 64: 555-559. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S03088 14698001022>
37. Scalbert, A. Manach, C. Morand, C. Dietary polyphenols and the prevention of diseases, Critical Reviews in Food Science and Nutrition.[revista en internet] 2005. [acceso abril 2014]; Vol. 45, 297-306. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16047496>
38. Núñez, C. Extracción con equipo Soxhlet. Argentina 2008. Disponible en: [www.cenunez.com.ar](http://www.cenunez.com.ar)
39. Escamilla, C. Cuevas, E. Guevara, J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Revista de la Facultad de Medicina UNAM. [revista en internet] Marzo-abril 2009. Medigraphic. Artemisa en línea.[acceso abril 2014];Vol. 52

- Nº. 2. Disponible en: <http://new.medigraphic.com/cgi-bin/resumen.cgi?idrevista=21&idarticulo=19578&idpublicacion=1998>
40. Castañeda, A Representaciones gráficas de las relaciones propiedad-concentración con fines cuantitativos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Básica e Ingeniería. [revista en internet] 2011.[accesokmayok2014]; Disponible en: [http://www.uaeh.edu.mx/docencia/P\\_Presentaciones/icbi/asignatura/Quimica AnaliticaV.pdf](http://www.uaeh.edu.mx/docencia/P_Presentaciones/icbi/asignatura/QuimicaAnaliticaV.pdf)
41. Gracia, M. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universidad Autónoma de Querétano. [revista en internet]. [acceso enero 2014]; Disponible en: [http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56\\_1UAQGarciaNava.pdf](http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1UAQGarciaNava.pdf)
42. Marquede FD, di Mambro VM, Georgetti SR, Casagrande R, Valim YM, Fonseca MJ. Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in tropical pharmaceutical formulations. J Pharmaceut Biomed. . [revista en internet] 2005.[acceso abril 2014]; 39 (3-4): 455-462. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708505002530>
43. Rojas, F. Aguilar, E. Romero, M. Castilla, N. Determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Baccharis tricuneata* "yana taya" en ratas albinas. Farmacia e Investigación. Vol. 3, Nº 1 Marzo-agosto 2010. Ayacucho-Perú
44. García, J. Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante en duraznos comercializados en Ciudad Juárez, México. Tecnociencia Chichuahua [revista en internet] mayo 2011. [acceso julio-setiembre 2014]; vol. 5 nº2. Pg 67-75. Disponible en: [http://tecnociencia.uach.mx/numeros/v5n2/data/Cuantificacion\\_de\\_polifenoles\\_y\\_capacidad\\_antioxidante\\_en\\_duraznos\\_comercializados\\_en\\_Ciudad\\_Juarez\\_Mexico.pdf](http://tecnociencia.uach.mx/numeros/v5n2/data/Cuantificacion_de_polifenoles_y_capacidad_antioxidante_en_duraznos_comercializados_en_Ciudad_Juarez_Mexico.pdf)
45. De la Rosa, C. Cuantificación de flavonoides totales en el extracto metanólico de *Glicine max* "soya" y su efecto larvicida contra *Aedes aegypti* Revista colombiana de Ciencias de la Salud. [revista en internet] enero 2011. [acceso julio-setiembre]; vol. 1 nº 1. Disponible en: <file:///C:/Users/usuario/Downloads/775-2026-1-PB.pdf>
46. Hernández, R. Fernandez, C. Baptista, P. Metodología de la investigación. Cuarta edición. Editorial McGraw-Hill. Mexico 2006
47. Bignami, C. Paolucci, M. Scossa, A. and Bertazza, G. Preliminary evaluation of nutritional and medicinal components of *Crataegus azarolus* fruits. . [revista en internet] 2003.[acceso julio-setiembre]; Acta Hort. 597:95-100. Disponible en: [http://www.lib.teiep.gr/images/stories/acta/acta/Acta%20597/597\\_11.pdf](http://www.lib.teiep.gr/images/stories/acta/acta/Acta%20597/597_11.pdf)

## **ANEXOS**

## Anexo 1



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

### C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Rosario del Pilar, VALDEZ PALOMINO, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	MYRTALES
FAMILIA	:	ONAGRACEAE
GENERO	:	Oenothera
ESPECIE	:	<i>Oenothera rosea</i> Ait..
N.V.	:	"yawar suqu", "chupa sangre"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 19 de Marzo del 2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
  
Dña. Laura Suscunne Medina  
JEFE

Figura 8. Certificado de identificación botánica de *Oenothera rosea* Ait. "yawar suqu". Ayacucho-2014

## Anexo 2



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

### C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Rosario del Pilar, VALDEZ PALOMINO, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	MAGNOLIIDAE
ORDEN	:	PIPERALES
FAMILIA	:	PIPERACEAE
GENERO	:	Piper
ESPECIE	:	<i>Piper elongatum Vahl.</i>
N.V.	:	"matico"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho 19 de Marzo del 2014

HERBARIUM HUAMANGENSIS  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
  
Dña. Lorena Acuña de...  
Jefe

Figura 9. Certificado de identificación botánica de *Piper elongatum* Vahl "matico". Ayacucho-2014

### Anexo 3



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

### C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Rosario del Pilar, VALDEZ PALOMINO, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A.1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Baccharis
ESPECIE	:	<b>Baccharis salicifolia R. &amp; P.</b>
SINONIMIA	:	<b>Baccharis lanceolata (Kunth.)</b>
N.V.	:	"chilca"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho 19 de Marzo del 2014

El Jefe del Herbarium Huamangensis  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga  
Bach. en Farmacia y Bioquímica  
Rosario del Pilar Valdez Palomino  
JEFE

Figura 10. Certificado de identificación botánica de *Baccharis salicifolia* R&P "chilca". Ayacucho-2014

#### Anexo 4

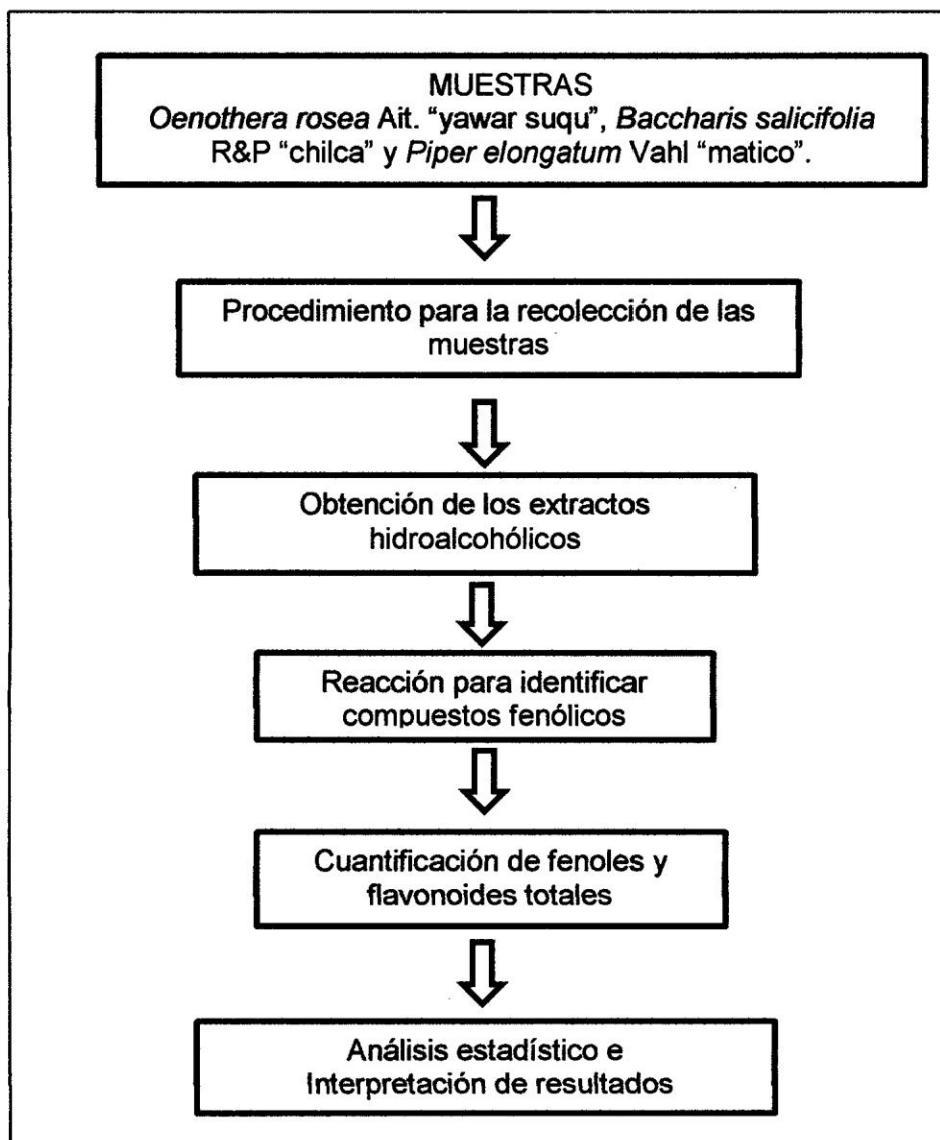


Figura 11. Flujograma del procedimiento de cuantificación de fenoles y flavonoides totales de las hojas y flores de *Oenothera rosea* Ait. "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl. "matico". Ayacucho – 2014.

Anexo 5



Figura 12. Hojas y flores de *Oenothera rosea* Ait. "yawar suqu" (a), *Piper elongatum* Vahl. "matico" (b) y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" (c). Ayacucho – 2014.

## Anexo 6

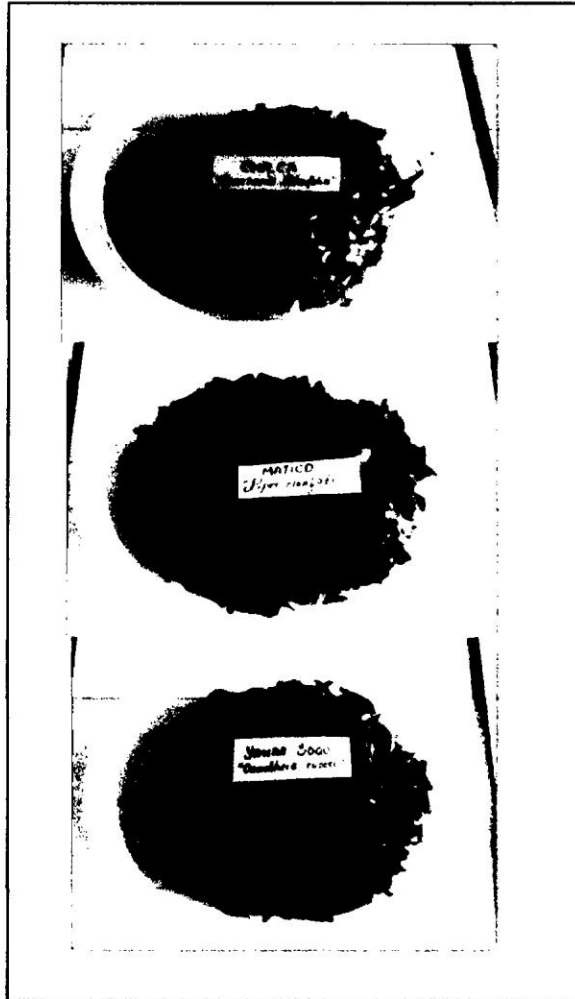


Figura 13. Hojas y flores trituradas de *Oenothera rosea* Ait. "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl "matico". Ayacucho - 2014

## Anexo 7

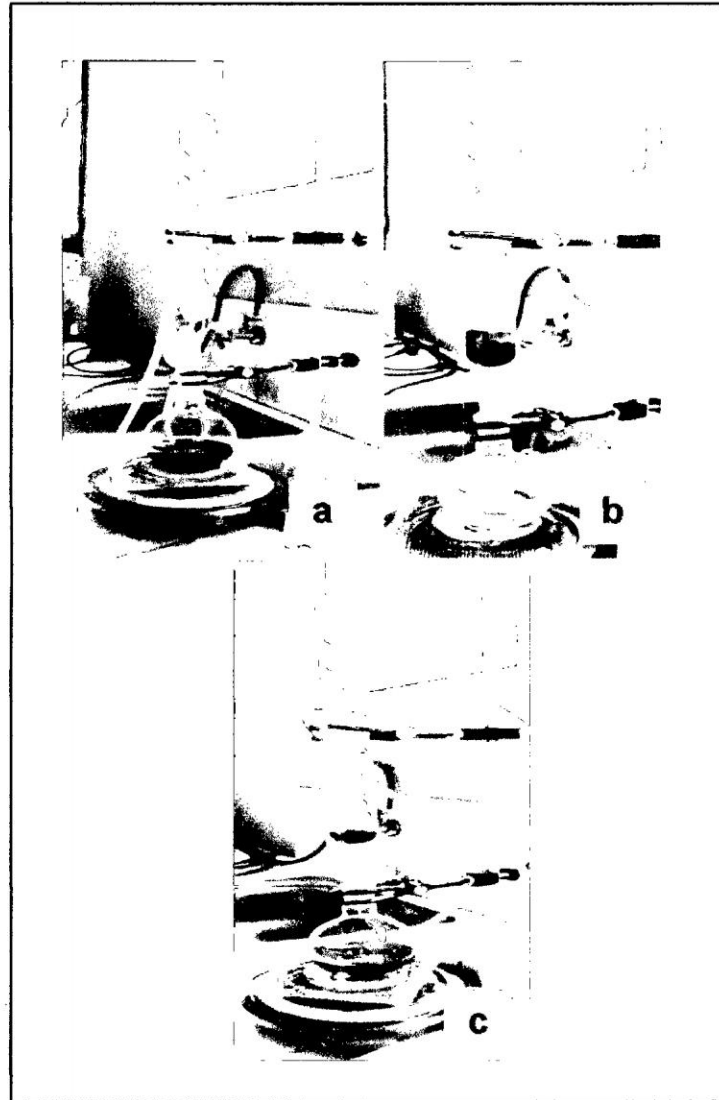


Figura 14. Extracción hidroalcohólica de hojas y flores trituradas de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” (a), *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” (b) y *Piper elongatum* Vahl. “matico” (c) usando equipo Soxhlet. Ayacucho – 2014.

## Anexo 8

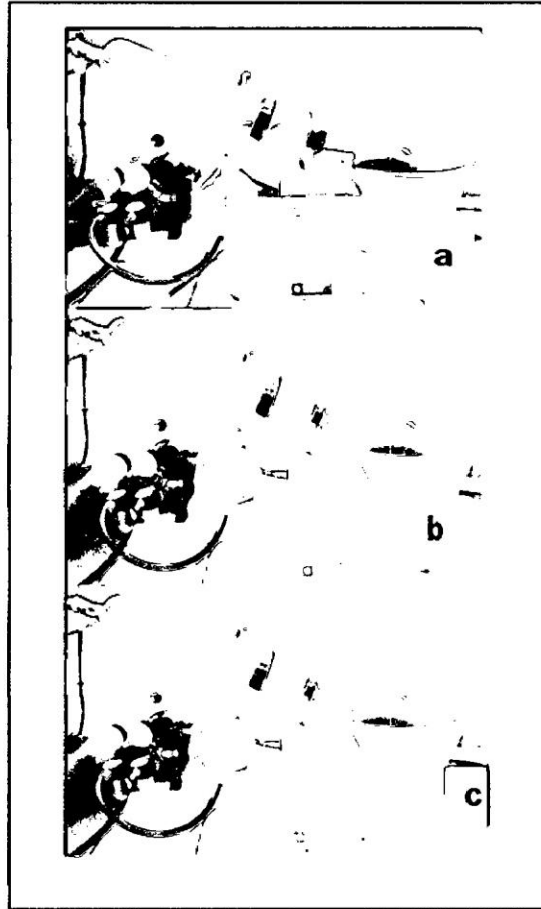


Figura 15. Concentración de los extractos hidroalcohólicos de las hojas y flores de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” (a), *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” (b) y *Piper elongatum* Vahl “matico” (c). Ayacucho – 2014.

## Anexo 9

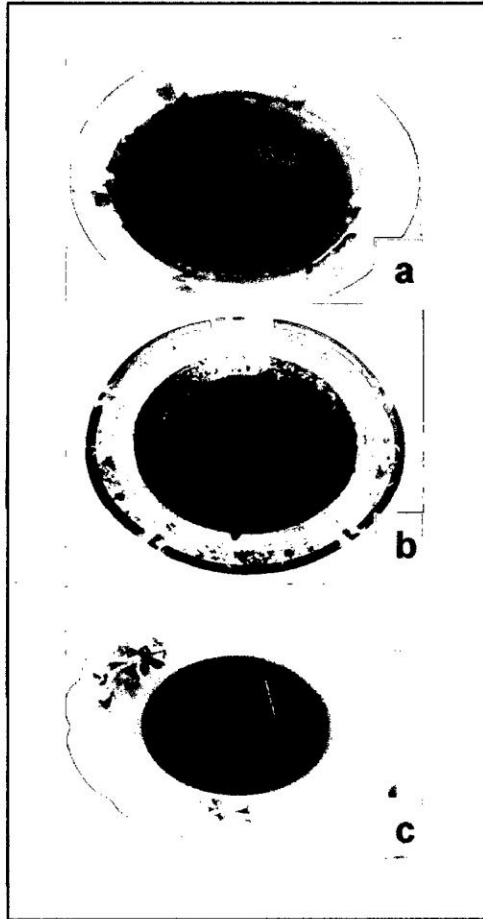


Figura 16. Extractos secos de las hojas y flores de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” (a), *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” (b) y *Piper elongatum* Vahl “matico” (c). Ayacucho - 2014.

## Anexo 10

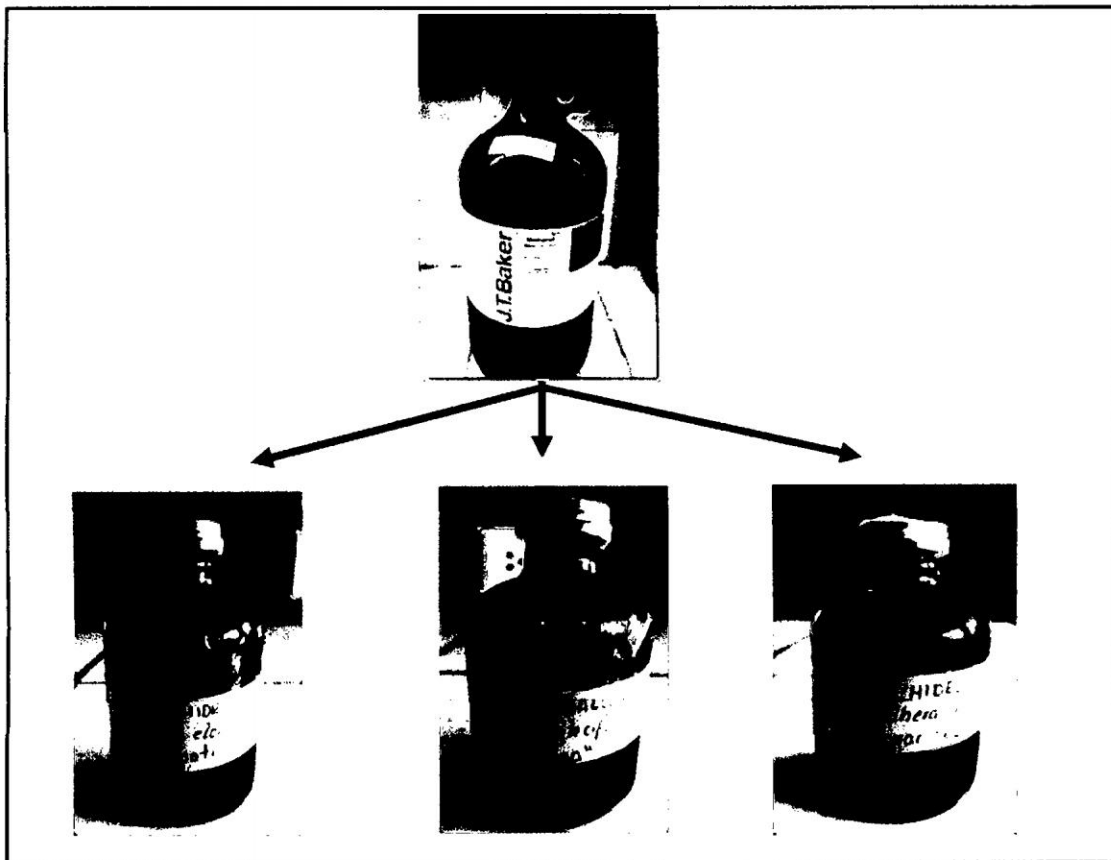


Figura 17. Reconstitución con metanol de los extractos de las hojas y flores de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl. "matico". Ayacucho – 2014.

## Anexo 11

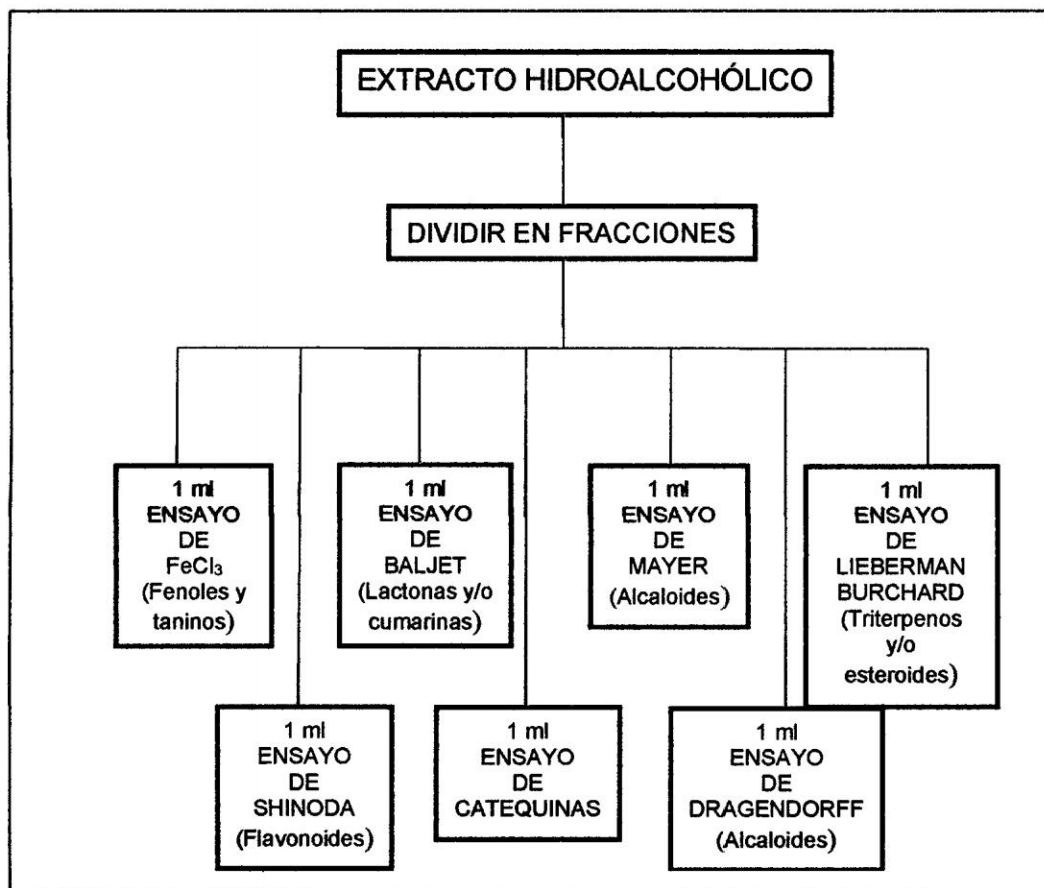


Figura 18. Esquema de las reacciones para la identificación de metabolitos secundarios de los extractos hidroalcoholicos de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl. "matico". Ayacucho – 2014.

## Anexo 12

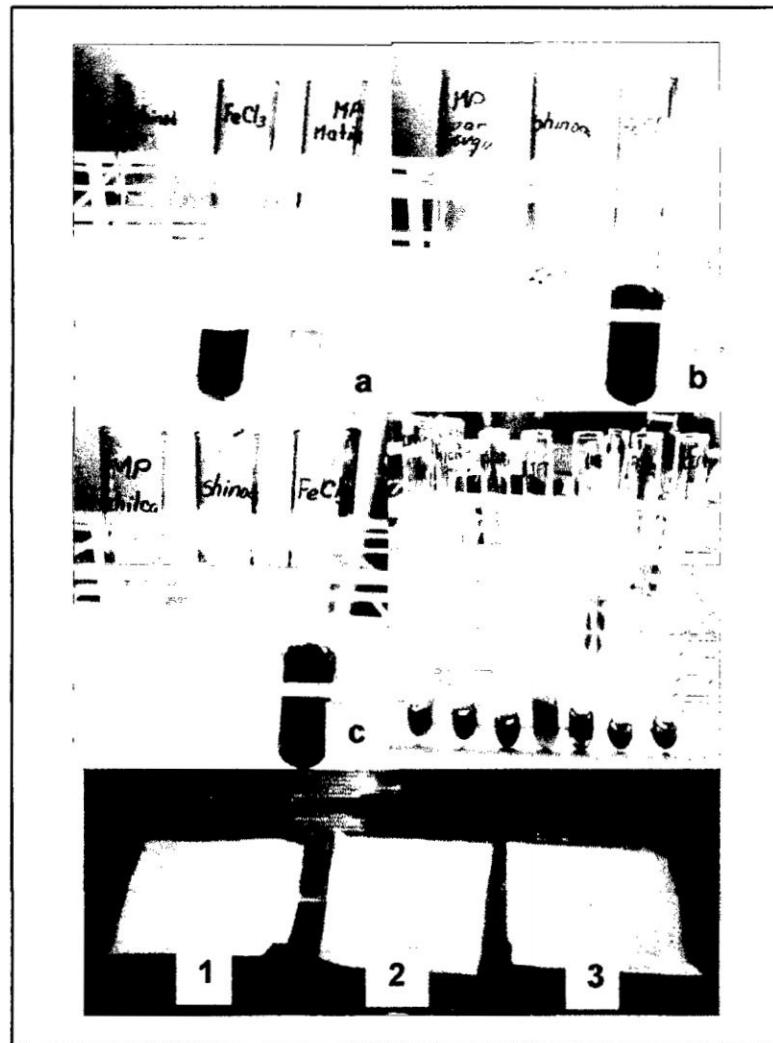


Figura 19. Marcha Fitoquímica e identificación de catequinas de los extractos hidroalcoholicos de *Piper elongatum* Vahl "matico" (a,2), *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu" (b,3) y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" (c,1). Ayacucho – 2014.

### Anexo 13

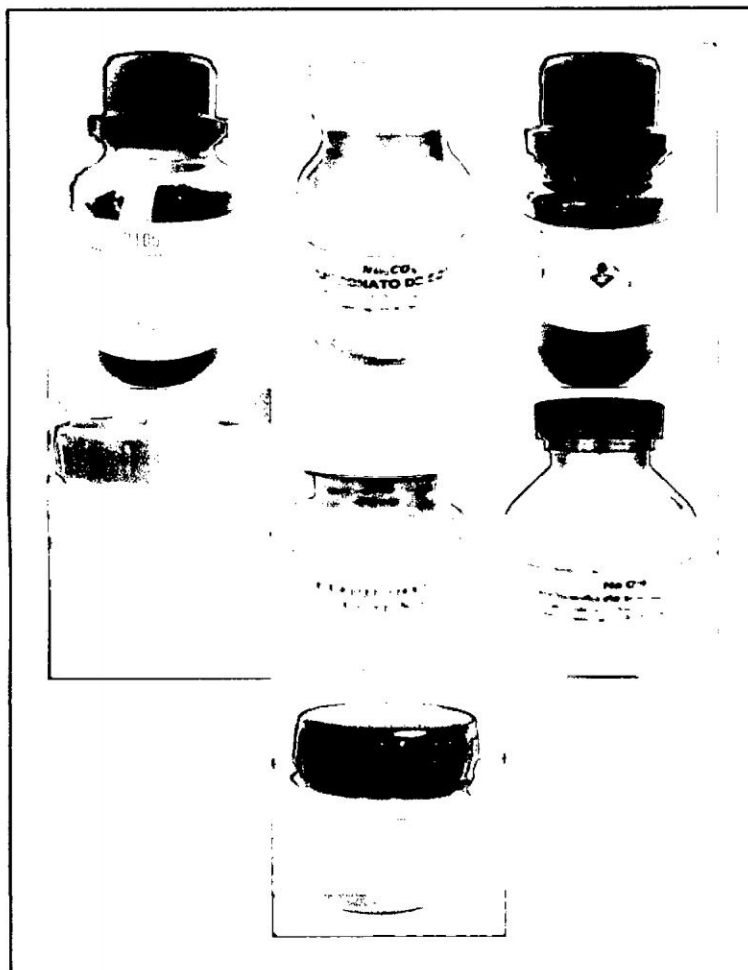


Figura 20. Reactivos usados en la determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides totales de las hojas y flores de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl "matico". Ayacucho – 2014

Anexo 14

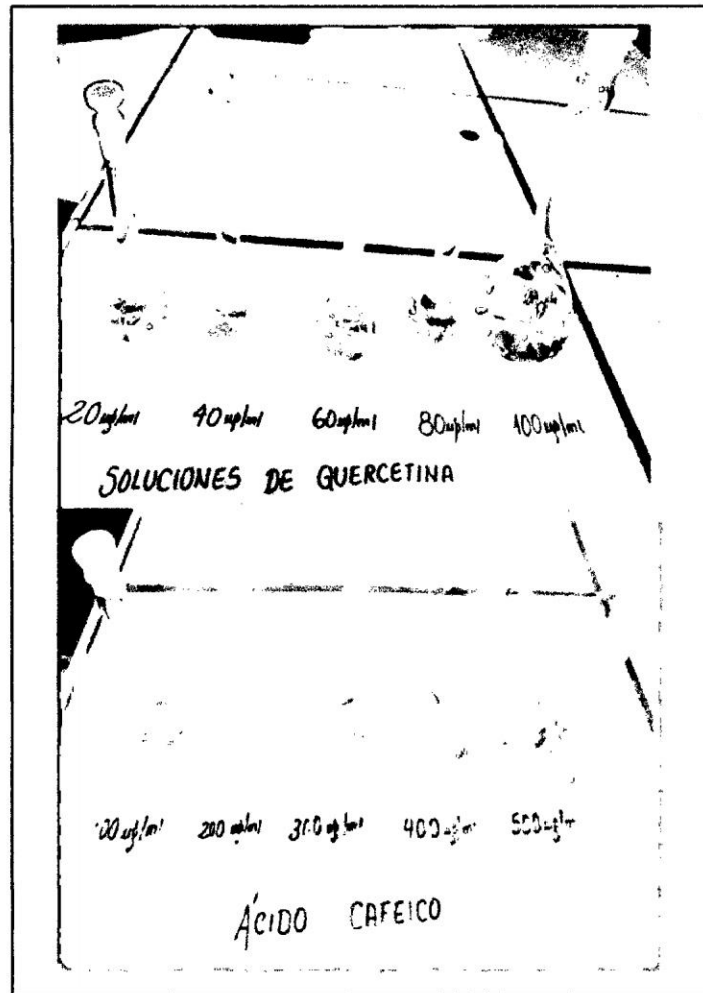


Figura 21. Preparación de los estándares de quercetina y ácido caféico a diferentes concentraciones. Ayacucho – 2014.

Anexo 15

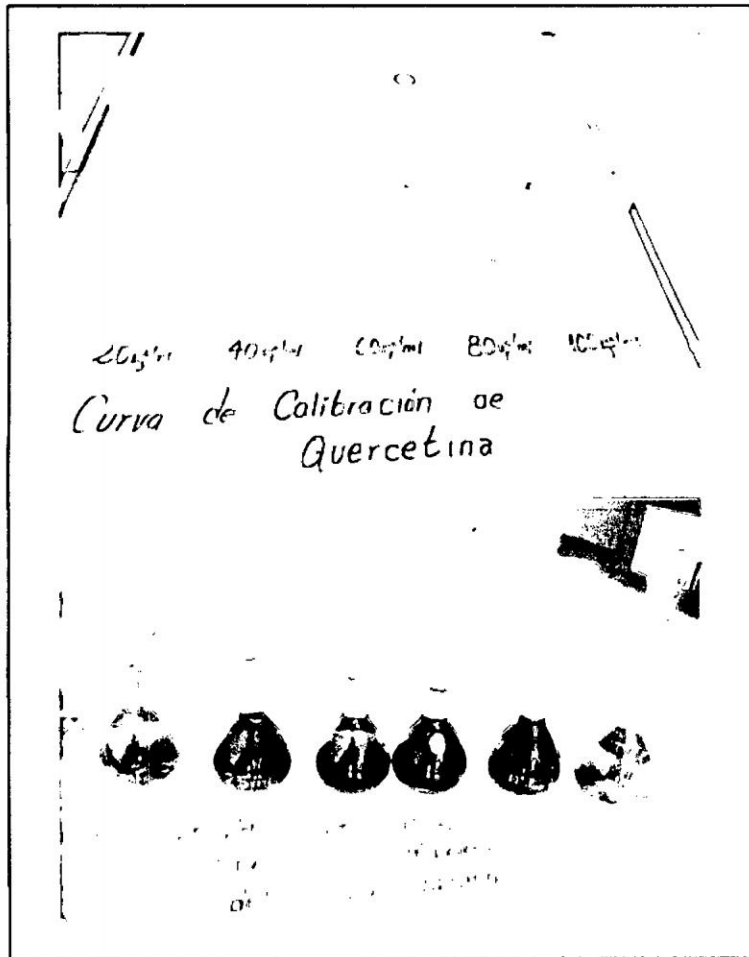


Figura 22. Soluciones de quercetina y ácido caféico, después de agregar los reactivos correspondientes para obtener la curva de calibración de fenoles totales y flavonoides totales. Ayacucho - 2014

## Anexo 16



Figura 23. Lectura de las soluciones de quercetina y ácido caféico en el espectrofotómetro UV, en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho-2014.

## Anexo 17

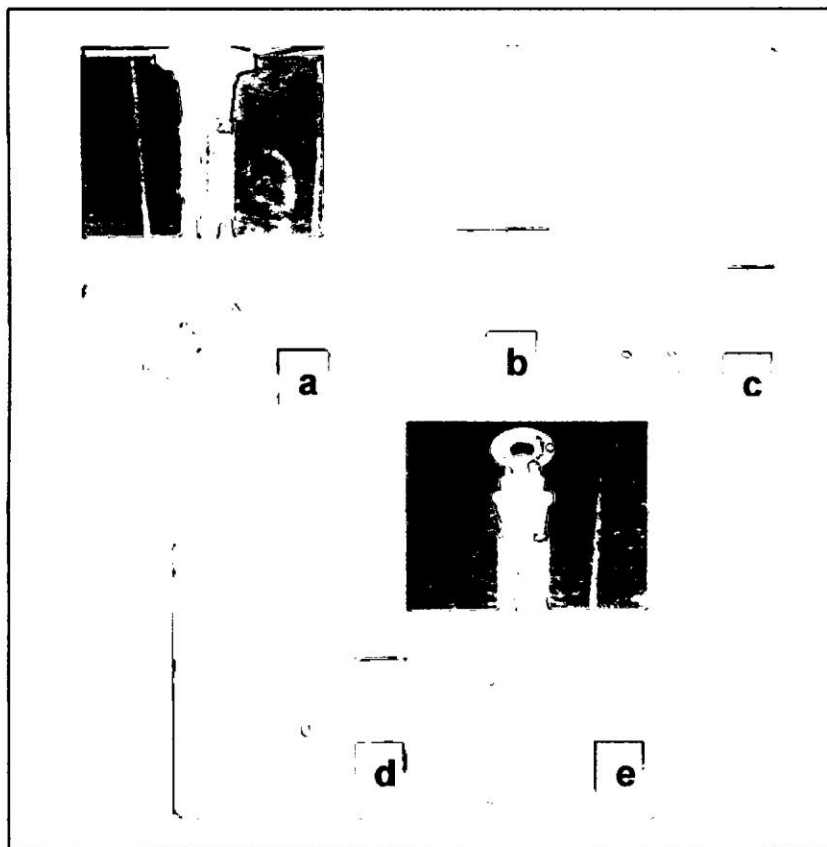


Figura 24. Preparación de reactivos usados para la determinación de fenoles totales y flavonoides totales. (a) Bicarbonato de sodio al 7%, (b) Folin Ciocalteu, (c) Nitrito de sodio al 5%, (d) Cloruro de aluminio al 10%, (e) Hidróxido de sodio 1M. Ayacucho – 2014.

## Anexo 18

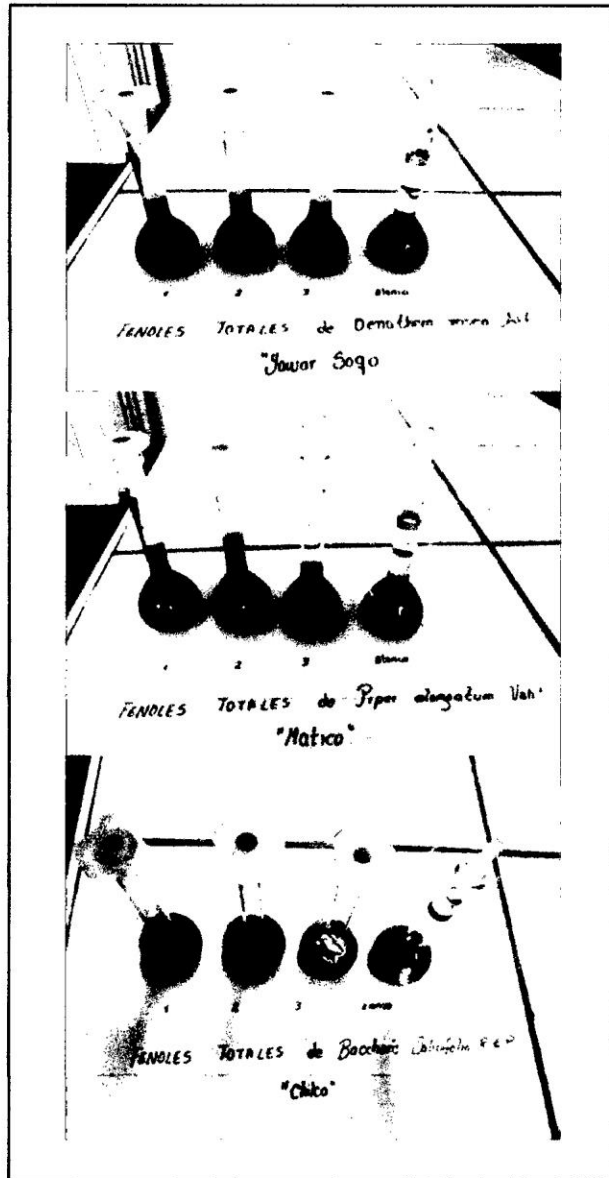


Figura 25. Preparación para determinar fenoles totales de *Oenothera rosea* Ait. "yawar suqu", *Piper elongatum* Vahl. "matico" y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca". Ayacucho - 2014

## Anexo19



Figura 26. Lectura en el espectrofotómetro UV de las soluciones de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Piper elongatum* Vahl "matico" y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca", para determinar fenoles totales. Ayacucho – 2014

Anexo20

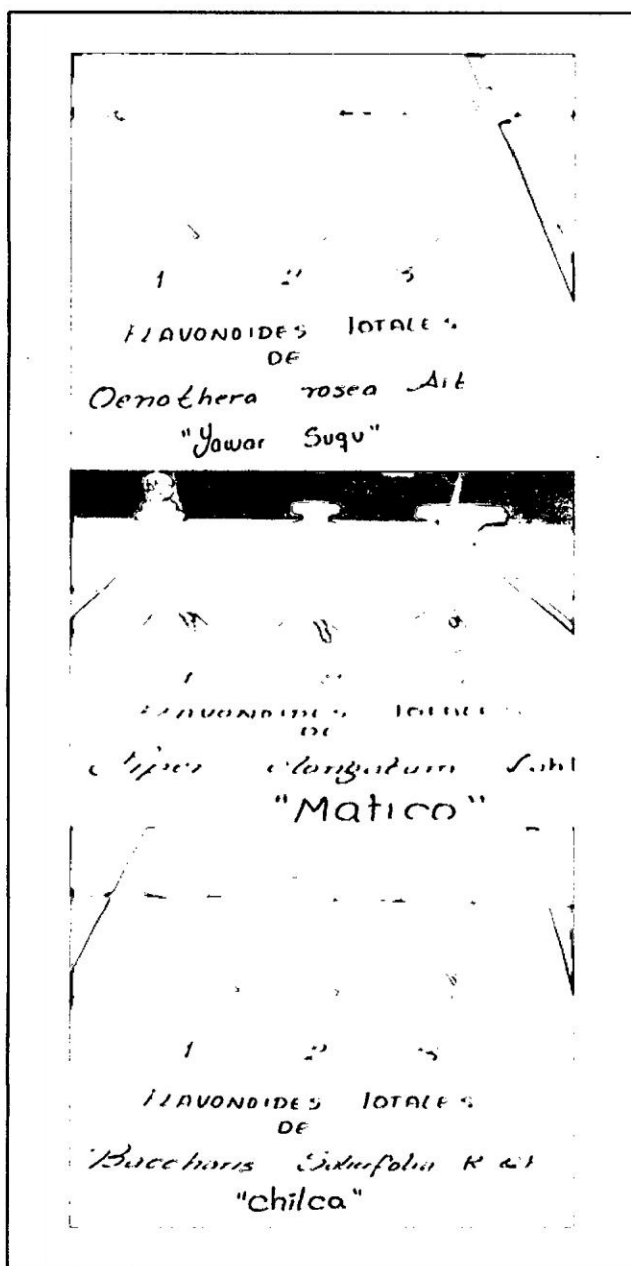


Figura 27. Preparación para determinar flavonoides totales de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu" (a), *Piper elongatum* Vahl "matico" (b), y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" (c). Ayacucho – 2014.

## Anexo21



Figura 28. Lectura en el espectrofotómetro UV de las soluciones de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Piper elongatum* Vahl. "matico" y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" para determinar flavonoides totales. Ayacucho – 2014.

Anexo 22

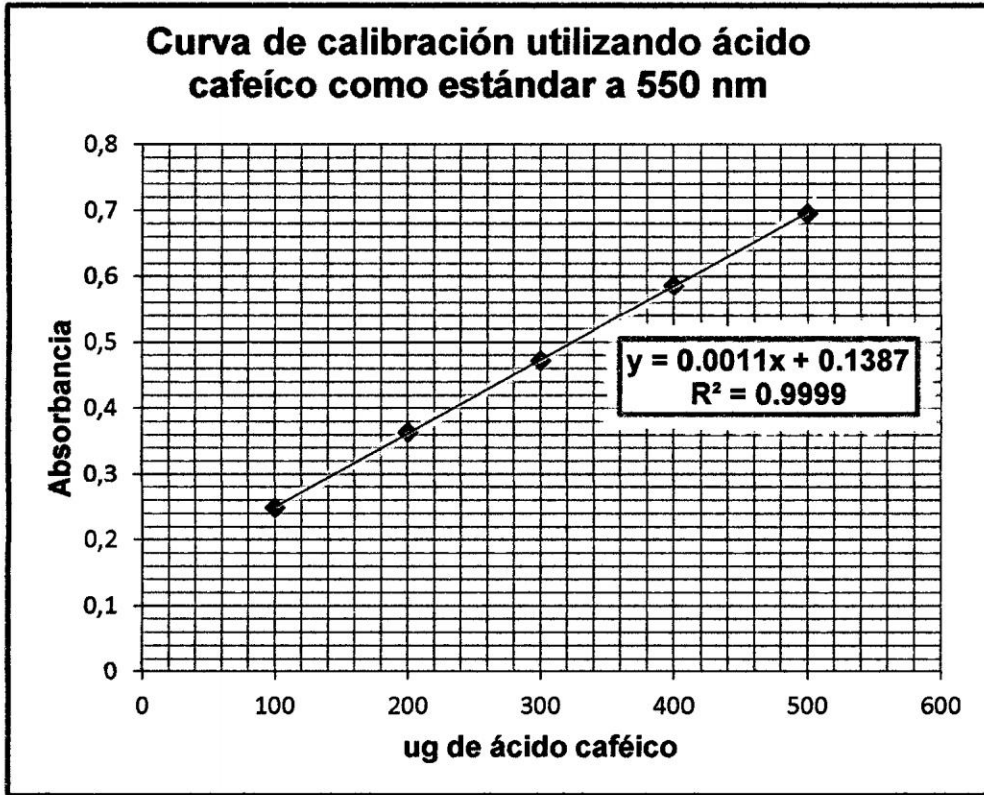


Figura 29. Curva de calibración utilizando ácido cafeico como estándar a 550 nm. Ayacucho - 2014

Anexo 23

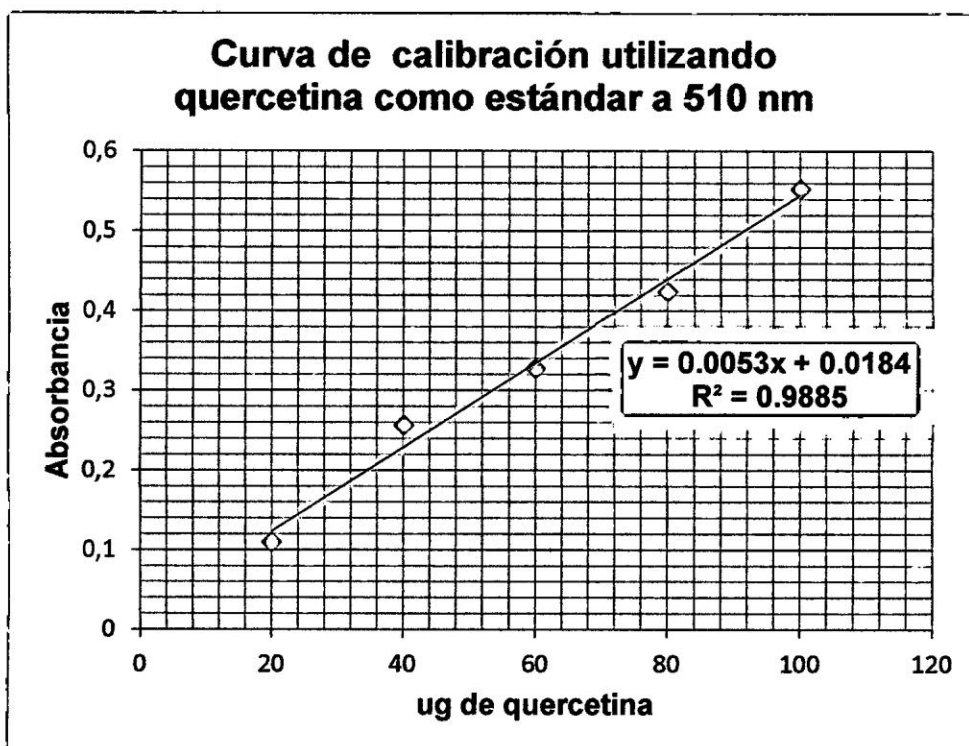


Figura 30. Curva de calibración utilizando quercetina como estándar a 510 nm.  
Ayacucho - 2014

## Anexo 24

Tabla 3: Análisis de varianza del porcentaje de fenoles totales de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Piper elongatum* Vahl "matico" y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca".

Porcentaje (mg%)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	121,226	2	60,613	77300,46	,000
Intra-grupos	4,705E-03	6	7,841E-04		
Total	121,231	8			

## Anexo 25

Tabla 4: Prueba de Tukey para el porcentaje de fenoles totales de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Piper elongatum* Vahl "matico" y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca".

HSD de Tukey		Subconjunto para alfa = 0,05		
	N	1	2	3
<i>Oenothera rosea</i> Ait	3	3,8782		
<i>Piper elongatum</i> Vahl	3		6,4230	
<i>Baccharis salicifolia</i> R&P	3			12,6176
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

## Anexo 26

Tabla 5: Análisis de varianza del porcentaje de flavonoides totales de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Piper elongatum* Vahl "matico" y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca", para determinar flavonoides totales.

Porcentaje (mg%)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	21,198	2	10,599	174752,9	,000
Intra-grupos	3,639E-04	6	6,065E-05		
Total	21,198	8			

## Anexo 27

Tabla 6: Prueba de Tukey para el porcentaje de flavonoides totales de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Piper elongatum* Vahl "matico" y *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" para determinar flavonoides totales.

HSD de Tukey		Subconjunto para alfa = 0,05		
	N	1	2	3
<i>Piper elongatum</i> Vahl	3	6,2051		
<i>Oenothera rosea</i> Ait	3		8,3155	
<i>Baccharis salicifolia</i> R&P	3			9,9545
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

## Anexo 28

Tabla 7. Porcentaje de fenoles y flavonoides totales y desviación estándar presentes en *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* Vahl. "matico".

Extracto	Fenoles totales mg%	Flavonoides totales mg%
	Desviación estándar	Desviación estándar
<i>P. elongatum</i> Vahl	3,8782% +/- 0,469	6,2051% +/- 0,153
<i>O. rosea</i> Ait	6,4230% +/- 0,433	8,3155% +/- 0,091
<i>B. salicifolia</i> R&P	12,6176% +/- 0,220	9,9545% +/- 0,058

Anexo 29

Tabla 8. Matriz de consistencia. Ayacucho - 2014.

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
Contenido de fenoles totales y flavonoides totales en <i>Oenothera rosea</i> Ait. "Yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico", cuál de estas especies presenta mayor contenido de fenoles totales y flavonoides totales?	¿Entre <i>Oenothera rosea</i> Ait. "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico", cuál de estas especies presenta mayor contenido de fenoles totales y flavonoides totales?	<p><b>Objetivo general:</b> Realizar la cuantificación de fenoles totales y flavonoides totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait. "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&amp;P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl. "matico".</p> <p><b>Objetivos específicos</b> - Identificar los metabolitos secundarios presentes en los extractos hidroalcohólicos de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&amp;P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" - Realizar la cuantificación de fenoles totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&amp;P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl. "matico". - Realizar la cuantificación de flavonoides totales <i>Oenothera rosea</i> Ait. "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&amp;P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl. "matico". - Realizar la comparación del contenido de fenoles totales y flavonoides totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&amp;P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico"</p>	<i>Baccharis salicifolia</i> R&P "chilca" presenta mayor contenido de fenoles totales y flavonoides totales que <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico" y <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu".	<p><b>Variable independiente.</b> Fenoles totales y flavonoides totales de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&amp;P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico".</p> <p><b>Indicador:</b> Un ml de los extractos hidroalcohólicos de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&amp;P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico".</p> <p><b>Variable dependiente.</b> Contenido de fenoles totales y flavonoides totales de los extractos hidroalcohólicos de <i>Oenothera rosea</i> Ait. "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&amp;P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl "matico".</p> <p><b>Indicadores:</b> <b>Fenoles totales:</b> mg equivalente de ácido cafeico/ g de extracto hidroalcohólico de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&amp;P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl. "matico". <b>Flavonoides totales:</b> mg equivalente de quercetina/ g de extracto hidroalcohólico de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&amp;P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl. "matico".</p>	<p><i>Oenothera rosea</i> Ait. Es conocida vulgarmente como chupasangre en la medicina tradicional peruana; se utiliza como: antiinflamatorio, para la neumonía y gonorrea.</p> <p><i>Baccharis salicifolia</i> R&amp;P: Se usa como analgésico, antirreumático, antiespasmódico y en tratamiento de fracturas.</p> <p><i>Piper elongatum</i> Vahl: Sus propiedades terapéuticas son hemostáticos, antiinflamatorios, en tratamientos dermatológicos y afecciones urinarias.</p> <p><b>Compuestos fenólicos:</b> Son metabolitos secundarios producidos por todas las plantas, además estos metabolitos esenciales favorecen el crecimiento y reproducción de las plantas y actúan como agentes protectores frente a patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa a condiciones de estrés, tales como infecciones, radiaciones UV, entre otros. Farmacológicamente los flavonoides ejercen acciones: antiespasmódica, antiulcerosa antioxidante gástrica y antiinflamatoria.</p>	<p><b>Tipo de investigación:</b> Básico - Descriptivo <b>Población:</b> Hojas y flores de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&amp;P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl. "matico". <b>Muestra:</b> Cinco gramos de hojas y flores de <i>Oenothera rosea</i> Ait "yawar suqu", <i>Baccharis salicifolia</i> R&amp;P "chilca" y <i>Piper elongatum</i> Vahl. "matico". las cuales serán usadas para la determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides totales. <b>Preparación del extracto etanólico.-</b> Pesar cinco gramos de hojas y flores secas de las tres muestras las cuales serán molidas en un mortero hasta su pulverización. Las muestras secas y molidas serán sometidas a extracción hidroalcohólica (20:80) utilizando equipo Soxhlet. Los extractos se concentrarán a sequedad en un rotavapor. Los residuos secos serán disueltos en 100 ml de metanol. Los extractos serán utilizados para la determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides totales. <b>Determinación del contenido de fenoles totales.-</b> El contenido de fenoles totales se determinará por el método colorimétrico de Singleton y Rossi <b>Determinación del contenido de flavonoides totales.-</b> El contenido de flavonoides totales en los extractos etanólicos será determinado por el método de Zhishen <i>et al</i>. <b>Análisis de Datos:</b> Las diferencias entre las medias serán contrastadas mediante el Análisis de Varianza (ANOVA) a un nivel de confianza de 95% (p&lt;0,05).</p>

# Contenido de fenoles totales y flavonoides totales en *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl “matico”. Ayacucho – 2014.

Rosario del Pilar Valdez Palomino<sup>1</sup>, Enrique Javier Aguilar Felices<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Farmacia y Bioquímica: UNSCH.

## RESUMEN

Los compuestos fenólicos, entre los cuales se encuentran los ácidos fenólicos y flavonoides, presentan una amplia ubicuidad en la naturaleza. Los ácidos fenólicos tienen gran importancia debido a su amplia actividad biológica ya que son: antioxidantes, antivirales, antitumorales, hepatoprotectores y antiinflamatorios. Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH con el objetivo de cuantificar fenoles totales y flavonoides totales de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Piper elongatum* Vahl “matico” y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”, durante los meses de marzo a agosto del 2014. Las muestras fueron recolectadas en el distrito de Huamanguilla y la provincia de Cangallo del departamento de Ayacucho. La identificación taxonómica se realizó en el *Herbarium Huamangensis* de la UNSCH según el sistema de Clasificación de Cronquist. A. El extracto hidroalcohólico se obtuvo mediante el método Soxhlet. Se realizó el tamizaje fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos mediante reacciones de coloración y precipitación según el procedimiento descrito por Miranda y Cuellar. El contenido de flavonoides totales y fenoles totales se realizó mediante los métodos de Zhishen *et al* y Singleton y Rossi. Es así que se compara el contenido de fenoles y flavonoides totales de las tres muestras, en equivalentes de ácido caféico y quercetina. *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”, presentó 12,62%, *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” 6,42% y *Piper elongatum* Vahl “matico” 3,88% de fenoles totales. El contenido de flavonoides fue *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” 8,32%, *Piper elongatum* Vahl “matico” 6,21% y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” 9,96%. Se concluye que *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” presentó cantidades superiores de fenoles y flavonoides totales frente a *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, y *Piper elongatum* Vahl “matico”.

**Palabras clave:** Compuestos fenólicos, flavonoides, *Oenothera rosea* Ait, *Piper elongatum* Vahl, *Baccharis salicifolia* R&P.

## SUMMARY

Phenolic compounds, which include acids phenolics and flavonoids, present a wide ubiquity in nature. Phenolic acids are of great importance due to its wide biological activity are: antioxidant, antiviral, antitumor, hepatoprotective and antiinflammatory. Flavonoids are natural pigments present in vegetables and protect the body from damage caused by oxidizing agents such as ultraviolet rays, chemical substances in food, etc. The present research work was carried out in the laboratory of pharmacognosy, Faculty of biological sciences of the UNSCH aiming to quantify total phenols and total flavonoids from *Oenothera rosea* Ait. "yawar suqu", *Piper elongatum* Vahl. "matico" and *Baccharis salicifolia* R & P "chilca", during the months of March through August 2014. The samples were collected in the Huamanguilla district and the province of Cangallo of the department of Ayacucho. The taxonomic identification was carried out in the *Herbarium Huamangensis* of the UNSCH according to Cronquist classification system. The hydroalcoholic extract was obtained using the Soxhlet method. Held screening phytochemical of the hydroalcoholic extracts through reactions of coloration and precipitation according to the procedure described by Miranda and Cuéllar The contents of total flavonoids and total phenols was performed using the methods of the Zhishen et to the and Singleton and Rossi. It's so compares the content of phenols and total flavonoids of three samples, equivalent of caffeic acid and quercetin. *Baccharis salicifolia* R&P "chilca", presented 12,62%, *Oenothera rosea* Ait. "yawar suqu" 6,42% and *Piper elongatum* Vahl. "matico" 3,88% of total phenols. The content of flavonoids was *Oenothera rosea* Ait. "yawar suqu" 8,32%, *Piper elongatum* Vahl. "matico" 6,21% and *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" 9,96%. It is concluded that *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" introduced greater quantities of phenols and total flavonoids from *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu", and *Piper elongatum* Vahl "matico".

**Key words:** Phenolic compounds, flavonoids, *Oenothera rosea* Ait, *Piper elongatum* Vahl, *Baccharis salicifolia* R & P.

## INTRODUCCIÓN

Hay unas ocho mil plantas naturales con compuestos fenólicos y aproximadamente la mitad de este número son flavonoides<sup>1</sup>. Los fenoles poseen un amplio espectro de actividades bioquímicas como antioxidante, antimutagénica, anticancerígenos<sup>2</sup>. Los compuestos fenólicos son el grupo más grande de los fitoquímicos que representan la mayor parte de la actividad antioxidante en las plantas<sup>3</sup>.

Los flavonoides son el grupo químico más grande de origen natural, que se producen en partes de diferentes plantas tanto en estado libre como glucósidos. Se encuentran al tener muchas actividades como; antiulcerosos, antiartríticos, anticancerígenas, etc<sup>4</sup>. Las flavonas y flavonoles son los más ampliamente distribuidos de todos los compuestos fenólicos<sup>5</sup>.

Además, los compuestos fenólicos son metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas y actúan como agentes protectores frente a patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa a condiciones de estrés; tales como infecciones, radiaciones UV, entre otros<sup>6</sup>. Los flavonoides, una clase de metabolitos aromáticos ampliamente distribuidos en la naturaleza, poseen una gran variedad de efectos biológicos entre los que sobresale la actividad antiinflamatoria<sup>7</sup>.

*Baccharis salicifolia* R&P “chilca”, se utiliza tradicionalmente como antiinflamatorio en varios países, como: Colombia, Ecuador, Perú, Argentina y Bolivia<sup>8,9</sup>.

De una revisión profunda de los estudios químicos y biológicos realizados en esta especie se reporta la actividad antiinflamatoria *in vitro* sobre varios mediadores de inflamación<sup>10</sup>. Sobre esta base se realizaron varios estudios que demostraron la presencia de flavonoides en las partes aéreas de la planta<sup>11,12</sup>.

*Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, se utiliza ampliamente en la medicina tradicional peruana por sus efectos antiinflamatorios, antitusígeno, antirreumático, etc<sup>13</sup>. El estudio fitoquímico del extracto etanólico de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, reporta la presencia de metabolitos secundarios como: flavonoides, taninos, cumarinas, quinonas y saponinas<sup>14</sup>. Estudios realizados han informado que los resultados del edema subplantar, inducido

por carragenina, demuestran que el extracto hidroalcohólico de yawar suqu posee efecto antiinflamatorio<sup>14</sup>.

*Piper elongatum* Vahl. “matico”, en la medicina tradicional es usado como antiinflamatorio, hemostático, antiséptico<sup>13</sup>. Se ha reportado que en su composición presenta aceites esenciales, ácido artánico, resinas, sustancias amargas (maticina), taninos, alcaloides, saponinas, flavonoides triterpenoides<sup>15</sup>.

Las especies *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”, *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” y *Piper elongatum* Vahl “matico”, son usados ampliamente en el departamento de Ayacucho, por su actividad antiinflamatoria, es por tal motivo que se propuso realizar la presente investigación para determinar el contenido de fenoles y flavonoides totales; compuestos que están estrechamente relacionados con la actividad antiinflamatoria.

### Objetivo General:

Realizar la cuantificación de fenoles totales y flavonoides totales de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl “matico”.

### Objetivos Específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en los extractos hidroalcohólicos de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl “matico”.
- Realizar la cuantificación de fenoles totales de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl “matico”.
- Realizar la cuantificación de flavonoides totales *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl “matico”.
- Realizar la comparación del contenido de fenoles totales y flavonoides totales de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl “matico”.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Farmacognosia del Área de Farmacia, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de marzo a agosto del 2014.

#### **Definición de la población y muestra**

**Población:** Hojas y flores de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Piper elongatum* Vahl “matico”, (recolectadas del distrito de Huamanguilla, durante los meses de febrero a marzo, en estado de floración) y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” (recolectada en la provincia de Cangallo, durante los meses de febrero a marzo, en estado de floración) del departamento de Ayacucho.

**Muestra:** Cinco gramos de hojas y flores secas de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Piper elongatum* Vahl “matico” y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”.

#### **Diseño metodológico para la recolección de datos**

**Recolección de la muestra:** Se procedió a recolectar aquellas hojas y flores que se encontraban en buen estado, mediante un muestreo por conveniencia, para luego lavarlas con la finalidad de eliminar sustancias contaminantes que puedan interferir con la investigación, después se procedió a secarlos al medio ambiente por siete días, una parte de las muestras fueron llevadas al *Herbarium Huamangensis* de la UNSCH para la identificación taxonómica.

La muestra restante se molieron haciendo uso de un mortero.

#### **Preparación del extracto hidroalcohólico**

Se pesaron cinco gramos de hojas y flores secas *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl “matico”, las cuales fueron molidas en un mortero hasta su pulverización.

Las muestras secas y molidas fueron sometidas a extracción hidroalcohólica (20:80) con etanol al 96°, utilizando el equipo de Soxhlet. Los extractos se concentraron a sequedad en un rotavapor Buchi 3000. Los residuos secos fueron disueltos en 100 ml de metanol. Los extractos se utilizaron para el screening fitoquímico y la determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides totales.

#### **Tamizaje fitoquímico**

Una vez obtenido el extracto hidroalcohólico se realizó las pruebas pertinentes para la identificación cualitativa de los principales grupos de metabolitos secundarios, directamente sobre el extracto de la planta con reacciones simples específicas de coloración y precipitación.

#### **Determinación del contenido de fenoles totales**

El contenido de fenoles totales se determinó por el método colorimétrico de Singletón y Rossi<sup>16</sup>, con algunas modificaciones.

##### **Procedimiento:**

- Transferir un ml del extracto obtenido de cada muestra, en una fiola de 25 ml que contenga nueve ml de agua destilada.
- Seguidamente se agregó un ml de reactivo Folin-Ciocalteu (grado analítico Merck).
- Se agita y luego se deja en reposo por cinco minutos.
- Posteriormente se adiciona diez ml de carbonato de sodio al 7%, y se afora con agua destilada a 25 ml.
- Después de 90 minutos en la oscuridad a temperatura de ambiente se procede a realizar la lectura a una longitud de onda de 550 nm.
- Para realizar la curva de calibración se usa soluciones de ácido caféico a concentraciones entre 100-500 µg/ml, preparadas a las mismas condiciones antes mencionadas.
- Se prepara el blanco a las mismas condiciones que la muestra problema usando un ml de agua destilada.

#### **Determinación del contenido de flavonoides totales**

El contenido de flavonoides totales en los extractos hidroalcohólicos se determinó por el método de Zhishen *et al*<sup>17</sup>.

##### **Procedimiento:**

- Transferir un ml de los extractos obtenidos, a una fiola de diez ml que contenga cuatro ml de agua destilada.
- Seguidamente se le adiciona 0,30 ml de nitrito de sodio al 5%.
- Después de cinco minutos se agrega 0,3 ml de cloruro de aluminio al 10%.

- Se deja transcurrir cinco minutos para agregar, dos ml de hidróxido de sodio 1M, se agita y afora a diez ml con agua destilada.
- Se realiza la lectura a una longitud de onda de 510 nm.
- Para la curva de calibración se usa soluciones de quercetina a concentraciones entre 20-100 µg/ml.
- Se prepara el blanco a las mismas condiciones antes mencionadas usando un ml de agua destilada.

### Análisis de datos

Los resultados se expresan en forma de medias y desviación estándar, y son representados mediante gráficos en forma de histogramas. Las diferencias entre las medias son contrastadas mediante el Análisis de Varianza (ANOVA) a un nivel de confianza de 95% ( $p < 0,05$ ).

### RESULTADOS

Tabla 1: Metabolitos secundarios presentes en los extractos hidroalcohólicos de las hojas y flores de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” y *Piper elongatum* Vahl “matico”.

Metabolitos secundarios	Especie		
	<i>O. rosea</i>	<i>B. salicifolia</i>	<i>P. elongatum</i>
Fenoles y/o	+++	+++	+++
Taninos			
Flavonoides	+++	++	++
Lactonas y/o	++	++	+
Cumarinas			
Catequinas	++	+++	+
Alcaloides	++	++	+
Alcaloides	+	+	+
Triterpenos y/o	+	-	+
Esteroides			

#### LEYENDA:

- (-) : Ausente  
 (+) : Leve  
 (++) : Moderada  
 (+++) : Abundante

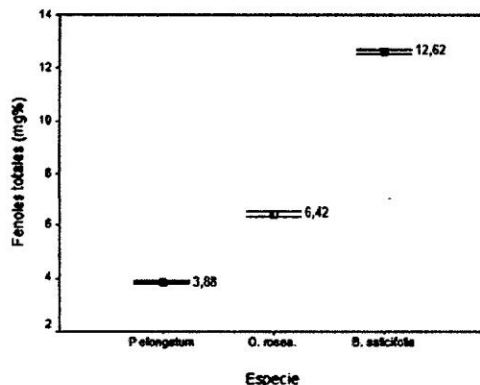


Figura 1. Porcentaje de fenoles totales presentes en *Piper elongatum* Vahl “matico”, *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”. Ayacucho – 2014.

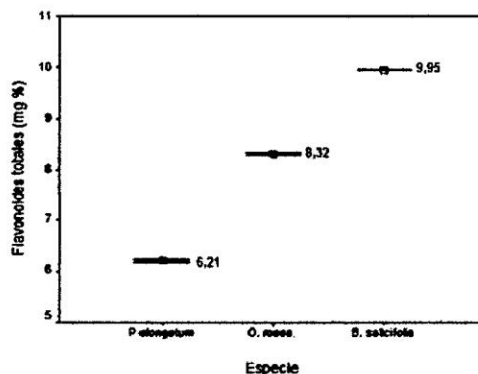


Figura 2. Porcentaje de flavonoides totales presentes en *Piper elongatum* Vahl “matico”, *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”. Ayacucho – 2014.

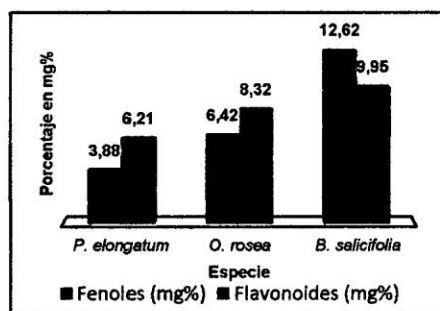


Figura 3. Variación del porcentaje de fenoles y flavonoides totales presentes en *Piper elongatum* Vahl “matico”, *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” y *Baccharis salicifolia* R&P. Ayacucho – 2014.

### DISCUSIÓN

La presente investigación se basó en la cuantificación de fenoles y flavonoides totales de *Oenothera rosea* Ait “yawar

suqu”, *Piper elongatum* Vahl “matico” y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”, mediante el método de Singletón y Rossi<sup>16</sup>, y Zhishen *et al*<sup>17</sup>.

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras, propiedades químicas y actividad biológica, englobando más de ocho mil compuestos distintos.

Como antioxidantes, los polifenoles pueden proteger las células contra el daño oxidativo y por lo tanto limitar el riesgo de varias enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo causado por los radicales libres<sup>18, 19</sup>.

Para obtener el extracto hidroalcohólico se realizó mediante el método de Soxhlet, que se define como la acción de separar con un líquido una fracción específica de una muestra, dejando el resto lo más íntegro posible<sup>20</sup>.

En el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico desarrollado según la técnica de Miranda y Cuellar<sup>21</sup>, se reporta la presencia de los metabolitos secundarios como: fenoles y/o taninos, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, catequinas, alcaloides, triterpenos y/o esteroides (Tabla 1).

Villena<sup>14</sup>, reporta para el caso de la *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, y menciona que estos metabolitos secundarios presentan acción farmacológica como antiinflamatoria.

Los metabolitos secundarios que más se encontraron en *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Piper elongatum* Vahl “matico” y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”, fueron: en el primer caso se encontraron fenoles y/o taninos, flavonoides, catequinas, lactonas y/o cumarinas; en el matico se observó la presencia de fenoles y/ taninos, flavonoides y alcaloides; y finalmente en la chilca se encontraron fenoles y/o taninos, flavonoides, catequinas, lactonas y/o cumarinas, y alcaloides, los compuestos fenólicos pueden ser detectados por el intenso color verde, azul o negro que producen cuando se le agrega el cloruro férrico al 5%<sup>22</sup>. La muestra que reaccionó inmediatamente a este ensayo fue la *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”, que al agregar una gota del reactivo se produjo una coloración azul intensa, en el caso de *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” y *Piper elongatum* Vahl “matico”, hubo un cambio de coloración a un azul intenso después de unos segundos de agregar el

reactivo. Los compuestos fenólicos poseen propiedades como antiinflamatorias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorales, anticancerígenas y antioxidantes. De esta última, principalmente, radica su función en el sistema nervioso, pues se ha visto relación de protección en enfermedades neurodegenerativas<sup>23</sup>. Al realizar el ensayo de catequina se evidencia la fluorescencia verde a la luz UV, es así que al comparar las tres muestras se observa que la *Baccharis salicifolia* R&P “chilca” obtuvo (+++), *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” (++) y *Piper elongatum* Vahl “matico” (+) respectivamente (Tabla 1). Con la reacción de Shinoda el cambio de color de amarillo a rojo indica la presencia de flavonas y flavonoles<sup>22</sup>, de esta manera al realizar el ensayo se diferencia las intensidades de la coloración rojo entre cada muestra dando como resultado que *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu” fue la que obtuvo una coloración más intensa en comparación con *Piper elongatum* Vahl “matico” y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”. El tamizaje fitoquímico es un ensayo previo de gran importancia para determinar cualitativamente la presencia de ciertos metabolitos secundarios presentes en muestras vegetales, dado que los ensayos como el de Shinoda y cloruro férrico que son específicos para compuestos fenólicos, dieron positivo en las tres muestras se continua con los ensayos para determinar cuantitativamente fenoles y flavonoides totales.

Se preparó la curva de calibración del ácido caféico a 550 nm para determinar la cantidad de fenoles totales de las muestras, para obtener la ecuación se prepararon soluciones de ácido caféico a 100, 200, 300, 400 y 500 µg/ml, de igual manera la curva de calibración de quercetina a 510 nm, en este caso las soluciones del estándar fueron preparadas a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 µg/ml, a las cuales se le agregaron distintos reactivos necesarios para cuantificar fenoles y flavonoides totales, que fueron preparados a las concentraciones según se indica en el método, una vez obtenida las soluciones preparadas se hizo la lectura correspondiente a una longitud de onda de 550 nm y 510. La curva de calibración son gráficos que muestran la respuesta de un método analítico (Señal) en función de cantidades conocidas de analito (concentraciones)<sup>24</sup>.

El contenido de fenoles y flavonoides presenta una amplia ubicuidad en la naturaleza ya que son responsables del buen funcionamiento de las plantas y, en su relación con el hombre ya que son utilizados para tratar enfermedades como ciertos cánceres y desordenes cardíacos por su poderosa actividad antioxidante; el consumo promedio de fenoles en los países europeos se estima en 23 mg por día<sup>25</sup>.

Los métodos de Folin-Ciocalteu y de formación del complejo con  $AlCl_3$  para determinar el contenido total de compuestos fenólicos y flavonoides, respectivamente, son comúnmente usados para analizar plantas y alimentos<sup>26</sup>. En el presente estudio, estos métodos se aplicaron para determinar el contenido de fenoles y flavonoides totales en tres muestras vegetales de la región de Ayacucho.

Se preparó el blanco y las tres muestras por triplicado para determinar el contenido de fenoles totales, las cuales se dejaron que reaccionen durante 90 minutos a temperatura de ambiente para luego realizar las lecturas correspondientes a una longitud de onda de 550 nm, la cual se acondicionó con un blanco que fue preparado a las mismas condiciones que las muestras.

En la Figura 1, se muestra el porcentaje de fenoles totales de cada muestra en estudio, en los resultados obtenidos se observa que por lo menos todos los extractos contienen compuestos fenólicos en cantidades significativas, siendo de esta manera y comparando las tres especies se observa que el contenido de fenoles entre el extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu" y *Piper elongatum* Vahl "matico", presentaron porcentajes de 6,42 % +/- 0,433 y 3,88 % +/- 0,469. Por otra parte *Baccharis salicifolia* R&P "chilca", es el que posee el mayor porcentaje de fenoles siendo de 12,62 % +/- 0,220, superando los valores encontrados en las otras dos especies. En el género *Baccharis*, Rojas<sup>27</sup>, ha reportado la presencia principalmente de compuestos fenólicos y flavonoides.

García<sup>28</sup>, cuantificó fenoles totales con el método de Folin-Ciocalteu en duraznos (*Prunus persica* L.) procedentes de tres diferentes zonas de cultivo. Las muestras del estado de Sonora fueron las que presentaron valores más altos, de fenoles totales (121 mg de ácido caféico por 100 gramos peso fresco).

Al igual que para determinar fenoles totales se prepararon el blanco y soluciones por

triplicado de los extractos hidroalcohólicos, para determinar el contenido de flavonoides totales, en este caso se realizó las lecturas a una longitud de onda de 510 nm, se preparó el blanco con la finalidad de acondicionar el espectrofotómetro UV- Vis.

En la determinación del contenido de flavonoides totales se comparó las tres especies dando como resultado que *Oenothera rosea* Ait "yawar suqu" y *Piper elongatum* Vahl "matico", presentaron cantidades de 8,32% +/- 0,153 y 6,21% +/- 0,091. *Baccharis salicifolia* R&P "chilca", fue la que presentó el más alto contenido de flavonoides totales (9,95% +/- 0,058), superando a las dos especies antes mencionadas. En la prueba de Shinoda en un estudio reportado por Rojas<sup>27</sup>, demuestra que el género *Baccharis* contiene cantidades significativas de flavonoides.

De la Rosa<sup>29</sup>, cuantificaron los flavonoides totales del extracto metanólico de la semilla de *Glycine max* "soya", expresados como quercetina por espectrofotometría UV-Vis, el contenido de flavonoides totales fue 16,528% de quercetina.

En la figura 3, se observa la comparación del porcentaje de fenoles y flavonoides totales de las tres muestras en análisis, lo cual demuestra que el extracto hidroalcohólico de *Baccharis salicifolia* R&P "chilca", es la muestra vegetal que posee mayores cantidades de estos dos componentes químicos presentes en las plantas. Palacios<sup>30</sup>, en la especie *Baccharis lanceolata* Kth. ha reportado la presencia principalmente de flavonoides triterpenoides y esteroides, aminogrupos, taninos y saponinas. Es así que se pondría gran interés en esta especie ya que los flavonoides ejercen acciones diuréticas, antiespasmódicas, antiulcerosa, antiinflamatorias y antioxidantes<sup>31</sup>.

El análisis de varianza, es una prueba estadística para analizar si más de dos grupos difieren significativamente entre sí en cuanto a sus medias y varianzas<sup>32</sup>. El nivel de significancia es un nivel de la probabilidad de equivocarse y que fija de manera a priori el investigador. El nivel de significancia de 0.05, el cual implica que el investigador tiene 95% de seguridad para generalizar sin equivocarse y sólo 5% en contra<sup>32</sup>.

Del análisis estadístico, se ve que hay una diferencia significativa del contenido de fenoles y flavonoides totales entre las tres muestras vegetales, en la prueba de Tukey, se demuestra que la cantidad de fenoles y

flavonoides totales entre cada muestra son distintas.

Los factores ambientales parecen no influir en el contenido de compuestos fenólicos entre las especies, y las variaciones de los metabolitos pueden ser de origen genético<sup>31</sup>.

Con estos resultados obtenidos en la presente investigación se afirma que *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Piper elongatum* Vahl “matico” y *Baccharis salicifolia* R&P “chilca”, presentan cantidades significativas de fenoles y flavonoides totales.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Harborne. J B, Herbert. H. *Phytochemical Dictionary*, Taylor & Francis London, 1993.
2. Marinova. D, Ribarova. F, Atanassova. M. Total phenolics and total Flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables, *Journal of the University of Chemical Technology and metallurgy*. [revista en internet] 2005. [acceso enero 2014]; 40, (3): 255-260. Disponible en: <http://www.researchgate.net/publication/258769164>
3. Sulaiman. C. T, Sadashiva. C. T, Satheesh. George, Goplakrishnan. V. K, Indira Balachandran. Chromatographic studies and in vitro screening for acetyl cholinesterase inhibition and antioxidant activity of three acacia species from south India. *Analytical Chemistry Letters*. [revista en internet] 2013. [acceso enero 2014]; 3:2, 111-118. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/22297928.2013.806405#.VFgEKvmG9ws>
4. Sulaiman CT, and Indira Balachandran. Total phenolics and total flavonoids in selected Indian medicinal plants. *Indian J. Pharm.Sci*. [revista en internet] 2012. [acceso febrero 2014]; 74(3), 258-260. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/article/PMC3574537/>
5. Peter. B, Kaufman, Leland. J, Warber CS, James A, Harry DL, Briemann, *Natural products from Plants*, CRC Press London, 1999.
6. Soler Cantero A. Capacidad antioxidante y la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos del aceite de oliva. Primeras etapas en el desarrollo de un aceite de oliva funcional [tesis doctoral]. Universidad de Lleida, 2009.
7. Gerritsen ME, Carley WW, Ranges GE, Shen CP, Phan SA, Ligon GF, Perry CA. Flavonoids inhibit cytokine-induced endothelial cell adhesion protein gene expression. *Am J Pathol. The american journal of pathology*. [revista en internet] 1995. [acceso mayo 2014];147: 278 - 292. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/article/PMC1869822/>
8. Gupta MP. (Editor). 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. 2ª ed. Bogota: Convenio Andrés Bello, Presencia; 1995
9. Correa JG, Bernal HY. Compositae (Asteraceae) *Baccharis latifolia*. En Correa JG, Bernal HY (ed). *Especies vegetales promisorias de los países del convenio Andrés Bello*. Tomo V: Editorial Guadalupe Ltda.; 1990.
10. Zdero C, Bohlmann F, Solomon JC, King R, Robinson H. Ent-clerodanes and other constituyents from bolivian Baccharis species. *Phytochemistry*. [revista en internet] 1989. [acceso abril-mayo 2014]; 28, 531-39. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0031942289800470>
11. Abad MJ, Besa AL, Ballarin B, Aragon O, Gonzales E, Bermejo P. Anti-inflammatory activity of four Bolivian Baccharis species (Compositae). *J Ethnopharm*. [revista en internet] 2006. [acceso mayo 2014]; 103, 338-44. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874105005441>
12. Salcedo L, Sterner O, Almanza G. Estudio fitoquímico de *Baccharis latifolia*. *Rev Bol Quím*. [revista en internet] 2001. [acceso mayo 2014]; 18, 43-48. Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S1813-53632011000100009&script=sci\\_arttext](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S1813-53632011000100009&script=sci_arttext)
13. Palacios, J. *Plantas Medicinales Nativas del Perú*. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Concytec). Editorial Serie Ciencias Lima-Perú 1997.
14. Villena, C. Arroyo, J. Estudio sobre el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* (yawar socco) en ratas con inducción a la inflamación aguda y crónica. *Revista Ciencia e Investigación*. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

- Lima – Perú [Revista en internet] 2012 [acceso abril 2014].
15. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de los productos naturales. Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima. 1994.
  16. Singleton, V. Rossi, A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic.* [revista en internet] 1965; [acceso abril 2014]; 16: 144-158. Disponible en: <http://ajevonline.org/content/16/3/144.abstract>.
  17. Zhishen, J. Mengcheng, T. Jianming, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chem.* [revista en internet] 1999. [acceso abril 2014]; 64: 555-559. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814698001022>
  18. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Revista nutricional Hosp* [revista en internet] 2002. [acceso noviembre 2013]; 17 (6): 271-278. Disponible en: [http://www.recursosdeenologia.com/docs/2002/2002\\_los\\_flavonoides\\_propiedades-y\\_acciones\\_antioxidantes.pdf](http://www.recursosdeenologia.com/docs/2002/2002_los_flavonoides_propiedades-y_acciones_antioxidantes.pdf)
  19. Scalbert, A. Manach, C. Morand, C. Dietary polyphenols and the prevention of diseases, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* [revista en internet] 2005. [acceso abril 2014]; Vol. 45, 297-306. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16047496>
  20. Núñez, C. Extracción con equipo Soxhlet. Argentina 2008. Disponible en: [www.cenunez.com.ar](http://www.cenunez.com.ar)
  21. Miranda, M. Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y productos naturales. Universidad de la Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba 2000.
  22. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de los productos naturales. Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima. 1994.
  23. Escamilla, C. Cuevas, E. Guevara, J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM.* [revista en internet] Marzo-abril 2009. Medigraphic. Artemisa en línea. [acceso abril 2014]; Vol. 52 N°. 2. Disponible en: <http://new.medigraphic.com/cgi-bin/resumen.cgi?idrevista=21&idarticulo=19578&idpublicacion=1998>.
  24. Castañeda, A. Representaciones gráficas de las relaciones propiedad-concentración con fines cuantitativos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. [revista en internet] 2011. [acceso mayo 2014]; Disponible en: [http://www.uaeh.edu.mx/docencia/P\\_Presentaciones/icbi/asignatura/QuimicaAnaliticaV.pdf](http://www.uaeh.edu.mx/docencia/P_Presentaciones/icbi/asignatura/QuimicaAnaliticaV.pdf)
  25. Gracia, M. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universidad Autónoma de Querétano. [revista en internet]. [acceso enero 2014]; Disponible en: [http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56\\_1UAQGarciaNava.pdf](http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1UAQGarciaNava.pdf)
  26. Marquede FD, di Mambro VM, Georgetti SR, Casagrande R, Valim YM, Fonseca MJ. Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in tropical pharmaceutical formulations. *J Pharmaceut Biomed.* [revista en internet] 2005. [acceso abril 2014]; 39 (3-4): 455-462. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708505002530>
  27. Rojas, F. Aguilar, E. Romero, M. Castilla, N. Determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Baccharis tricuneata* “yana taya” en ratas albinas. *Farmacia e Investigación.* Vol. 3, N° 1 Marzo-agosto 2010. Ayacucho-Perú.
  28. García, J. Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante en duraznos comercializados en Ciudad Juárez, México. *Tecnociencia Chihuahua* [revista en internet] mayo 2011. [acceso julio-setiembre 2014]; vol. 5 n°2. Pg 67-75. Disponible en: [http://tecnociencia.uach.mx/numeros/v5n2/data/Cuantificacion\\_de\\_polifenoles\\_y\\_capacidad\\_antioxidante\\_en\\_duraznos\\_comercializados\\_en\\_Ciudad\\_Juarez\\_Mexico.pdf](http://tecnociencia.uach.mx/numeros/v5n2/data/Cuantificacion_de_polifenoles_y_capacidad_antioxidante_en_duraznos_comercializados_en_Ciudad_Juarez_Mexico.pdf)
  29. De la Rosa, C. Cuantificación de flavonoides totales en el extracto metanólico de *Glicine max* “soya” y su efecto larvicida contra *Aedes aegypti* *Revista colombiana de Ciencias de la*

Salud. [revista en internet] enero 2011.  
[acceso julio-setiembre]; vol. 1 n° 1.  
Disponible en:  
file:///C:/Users/usuario/Downloads/775-  
2026-1-PB.pdf

30. Palacios, J. Plantas Medicinales Nativas del Perú. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Concytec). Editorial Serie Ciencias Lima-Perú 1997.
31. López T. Fitoterapia, flavonoides, fitoquímica. Ámbito farmacéutico. [revista en internet] 2002. [acceso marzo 2014]; vol 21, n° 4. Offarm pp. 108. Disponible en:  
[http://apps.elsevier.es/watermark/ctl\\_ser\\_vlet?\\_f=10&pident\\_articulo=1302891&pident\\_usuario=0&pident\\_revista=4&fichero=4v21n04a13028951pdf001.pdf&ty=119&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es](http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_ser_vlet?_f=10&pident_articulo=1302891&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v21n04a13028951pdf001.pdf&ty=119&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es)
32. Hernández, R. Fernandez, C. Baptista, P. Metodología de la investigación. Cuarta edición. Editorial McGraw-Hill. México 2006