



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y**  
**BIOQUÍMICA**  
**CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y**  
**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN *Salvia splendens***  
**(Salvia Roja)**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE QUÍMICO**  
**FARMACÉUTICO**

**AUTOR**

PURIZACA MEJIA CARLOS ERIK

ORCID: 0000-0002-5216-5371

**ASESOR**

Mgtr. ZEVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA

ORCID: 0000-0003-2547-9831

CHIMBOTE – PERÚ

2019

**CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y CAPACIDAD**

**ANTIOXIDANTE EN *Salvia splendens* (*Salvia roja*)**

**EQUIPO DE TRABAJO**

**AUTOR**

Purizaca Mejia Carlos Erik

ORCID: 0000-0002-5216-5371

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado, Chimbote,

Perú

**ASESOR**

Mgtr. Zevallos Escobar, Liz Elva

ORCID: 0000-0003-2547-9831

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de La Salud,

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote, Perú

**JURADO**

Dr. DÍAZ ORTEGA, JORGE LUIS

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Mgtr. RAMÍREZ ROMERO, TEODORO WALTER

ORCID: 0000-0002-2809-709X

Mgtr. VÁSQUEZ CORALES, EDISON

ORCID: 0000-0001-9059-6394

## **JURADO EVALUADOR DE TESIS**

---

**Dr. Jorge Luis Díaz Ortega**  
**Presidente**

---

**Mgtr. Teodoro Walter Ramírez Romero**  
**Miembro**

---

**Mgtr. Edison Vásquez Corales**  
**Miembro**

---

**Mgtr. Liz Elva Zevallos Escobar**  
**Asesor**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por ser guía en cada paso de mi vida, por rodearme de personas de quienes aprendí que la vida a pesar de sus encuentros y desencuentros vale vivirla de la mejor manera posible.

A mi asesora, Liz Zevallos Escobar, por el apoyo, paciencia, sugerencias, enseñanzas y consejos que hicieron posible la culminación del presente trabajo de investigación.

Al profesor, Edison Vásquez Corales encargado del laboratorio de investigación por su apoyo y colaboración en el desarrollo experimental de la tesis.

## DEDICATORIA

A mi familia, en especial a mis padres  
por todo el amor, comprensión,  
motivación y confianza depositada en  
mi persona

A mis amigos de ayer, hoy y siempre.  
Gracias por los buenos y gratos  
momentos que han de perdurar en la  
memoria.

## **EPIGRAFE**

**“El éxito no es el final, el fracaso no es fatal; es el coraje de continuar lo que  
cuenta”**

**Winston Churchill**

## RESUMEN

El proceso de oxidación crea radicales libres en nuestras células, las cuales en grandes proporciones pueden causar daño celular, provocando reacciones en cadena que ocasionan numerosas enfermedades; estas reacciones sólo son eliminadas por la acción de otras moléculas denominadas antioxidantes; siendo los polifenoles los principales antioxidantes naturales. El objetivo de este estudio es cuantificar polifenoles y determinar capacidad antioxidante en el tallo, hojas y flores de la planta *Salvia splendens*. Se utilizó el método de Folin Ciocalteu para cuantificar polifenoles totales teniendo a la catequina como estándar y la técnica del DPPH con Trolox como estándar para determinar la capacidad antioxidante en diferentes extractos de la especie. Los resultados evidenciaron una presencia mayor de polifenoles en la muestra de infusión de hojas, y flores  $19.43 \pm 0.42$  y  $46.99 \pm 1.07$  mg equivalente de catequina/g de muestra seca respectivamente. Los extractos metanólicos mostraron valores  $13.43 \pm 0.18$  y  $36.40 \pm 2.04$  mg equivalente de catequina/g de muestra seca en hojas y flores respectivamente. De manera similar la capacidad antioxidante fue mayor en las infusiones de hojas y flores  $1143.64 \pm 77.49$  y  $1333.44 \pm 70.47$  mM equivalente de trolox/g de muestra seca respectivamente, los extractos metanólicos mostraron lecturas menores  $147.19 \pm 10.26$  y  $334.06 \pm 10.21$  mM equivalente de trolox/g de muestra seca en hojas y flores respectivamente. Por tanto se concluye que *Salvia splendens* tiene contenido de polifenoles y capacidad antioxidante.

**Palabras clave:** antioxidante, DPPH, Folin Ciocalteu, polifenoles, radicales libres, *Salvia splendens*.



## ABSTRACT

The oxidation process creates free radicals in our cells, which in large proportions can cause cell damage, causing chain reactions that cause disease; these reactions are only eliminated by the action of other molecules called antioxidants, being polyphenols the main natural antioxidants. The objective of this study is to quantify polyphenols and determine the antioxidant capacity in the stem, leaves and flowers of the plant *Salvia splendens*. The Folin Ciocalteu method was used to quantify total polyphenols having catechin as standard and the DPPH technique with Trolox as standard to determine antioxidant capacity in different extracts of the species. The results showed a greater presence of polyphenols in the sample of infusion of leaves, and flowers **19.43 ± 0.42** and **46.99 ± 1.07** mg of catechin eq./g of dry sample respectively. The methanolic extracts showed values **13.43 ± 0.18** and **36.40 ± 2.04** mg of catechin eq./g of dry sample in leaves and flowers respectively. Similarly, the antioxidant capacity was higher in the infusions of leaves and flowers **1143.64 ± 77.49** and **1333.44 ± 70.47** mM trolox eq./g of dry sample respectively, the methanolic extracts showed lower readings **147.19 ± 10.26** and **334.06 ± 10.21** mM trolox eq./g of dry sample in leaves and flowers respectively. Therefore it is concluded that *Salvia splendens* has polyphenol content and antioxidant capacity.

Key words: antioxidant, DPPH, Folin Ciocalteu, free radicals, polyphenols, *Salvia splendens*.

## Contenido

<b>EQUIPO DE TRABAJO</b> .....	iii
<b>JURADO EVALUADOR DE TESIS</b> .....	iv
<b>DEDICATORIA</b> .....	vi
<b>EPIGRAFE</b> .....	vii
<b>RESUMEN</b> .....	viii
<b>ÍNDICE DE GRÁFICOS Y TABLAS</b> .....	xi
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	5
2.1. Antecedentes .....	5
2.2. Bases teóricas de la investigación.....	6
<b>III. HIPÓTESIS</b> .....	23
<b>IV. METODOLOGÍA</b> .....	24
4.1. Diseño de la investigación.....	24
4.2. Población y muestra.....	28
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores .....	28
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	29
4.5. Plan de análisis .....	29
4.6. Matriz de consistencia.....	30
4.7 Principios éticos.....	31
<b>V. RESULTADOS</b> .....	32
5.1. Resultados .....	32
5.2. Análisis de resultados.....	34
<b>VI. CONCLUSIONES</b> .....	40
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	41
<b>ANEXOS</b> .....	54

## ÍNDICE DE GRÁFICOS Y TABLAS

<b>TABLA 1:</b> Contenido de polifenoles totales por gramo de muestra seca en hojas, tallo y flor de <i>Salvia splendens</i> .....	32
<b>TABLA 2:</b> Capacidad antioxidante en muestras de hojas, tallo y flor de <i>Salvia splendens</i> .....	33
<b>GRAFICO 1:</b> Curva de calibración de la determinación de polifenoles totales.....	54
<b>GRAFICO 2:</b> Curva de calibración DPPH (1,1-difenil-2- picrilhidrazilo).....	54

## Abreviaturas

- (ALA): ácido alfa lipoico
- (BHA): Butilhidroxianisol
- (CAT): catalasa
- (DG): galato dodecilo
- (EAG): equivalente ácido gálico
- (EC): equivalente de catequina
- (GP<sub>x</sub>): glutatión peroxidasa
- (GSH): glutatión
- (HBT): Butil hidroxitolueno
- (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>): peróxido de hidrógeno
- (HO<sub>2</sub>): radical hidroperóxilo
- (IL): interleucina
- (LO): Lipooxigenasa
- (LDL): lipoproteína de baja densidad
- (mM): milimolar
- (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>): Dióxido de nitrógeno
- (NO): Óxido nítrico
- (OH<sup>-</sup>): radical hidroxilo
- (O<sub>2</sub><sup>-</sup>): radical superóxido
- (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>): oxígeno singlete
- (OG): galato de octilo

- (ONOO-): Peroxinitrito
- (OMS): Organización mundial de la salud
- (O<sub>3</sub>): Ozono
- (PG): galato de propilo
- (PR<sub>x</sub>): peroxirredoxinas
- (ROS, ERO): Especies reactivas de oxígeno
- (RO-): radical alcóxilo
- (ROO-): radical peróxilo
- (RNS, ERN): Especies reactivas de nitrógeno
- (SASH): extracto metanólico de hojas de *S. splendens*
- (SASF): extracto metanólico de flores de *S. splendens*
- (SAST): extracto metanólico del tallo de *S. splendens*
- (SASHi): infusión de hojas de *S. splendens*
- (SASF<sub>i</sub>): infusión de flores de *S. splendens*
- (SAST<sub>i</sub>): infusión de tallo de *S. splendens*
- (-SH): grupo sulfhidrilo
- (SOD): superóxido dismutasa
- (TBHQ): terbutil hidroquinona
- (TR<sub>x</sub>): tiorredoxinas

## I. INTRODUCCIÓN

La denominación del genero *Salvia* proviene del latín *Salvere* (ser salvado) en alusión a sus beneficios como hierba medicinal. Representa el más amplio e importante grupo de la familia *Lamiaceae* con un gran número de especies, aproximadamente 1000 distribuidas en todo el mundo. Varias de sus especies han tenido una notable propagación en tres zonas del planeta: en América central y América del sur (500 spp), en Asia central y el Mediterráneo (250 spp) y en Asia oriental (90 spp).<sup>(1-4)</sup>

El género *salvia* ha atraído gran interés, siendo objeto de varios estudios químicos, medicinales y farmacológicos debido a que presenta un gran número de metabolitos secundarios útiles. Estudios fitoquímicos realizados en plantas de este género reportaron el aislamiento de diterpenoides, triterpenoides, esteroides además de antocianinas, flavonoides y ácidos fenólicos.<sup>(2,3,5-7)</sup>

Estos componentes secundarios muestran gran actividad biológica y propiedades medicinales utilizadas ampliamente en la medicina tradicional de varios países como antimicrobiano, antiinflamatorio, antitumoral, ansiolítico, efecto antidiabético, citoprotector y diurético.<sup>(4,6)</sup>

El cuerpo humano como producto del estrés oxidativo genera especies reactivas de oxígeno (ROS) como el anión superóxido, radicales hidroxilo, y peróxido de hidrogeno por diversos sistemas enzimáticos consecuencia del consumo de oxígeno.<sup>(7,8)</sup> Sin embargo, en cantidades pequeñas estas ROS pueden ser beneficiosas en los procesos celulares como moléculas de señalización.<sup>(9,10)</sup> Durante el estrés oxidativo grandes

cantidades de ROS pueden ser producidos y pueden ser peligrosos por su habilidad para oxidar numerosas moléculas, incluyendo proteínas, lípidos y ADN. La acumulación de ROS producto de la generación incrementada de radicales libres en sistemas biológicos originan daño oxidativo en tejidos afectando las funciones e integridad celular. <sup>(8,11)</sup> Efectivamente se ha informado que las ROS intervienen ampliamente en procesos de envejecimiento celular, carcinogénesis, enfermedades coronarias del corazón, incluyendo la desestabilización y desintegración de membranas, alteración de ADN y oxidación de LDL. Este desbalance debe ser detenido mediante el suministro de sustancias antioxidantes. <sup>(9, 12-15)</sup>

Los daños causados por los radicales libres están asociados con el origen de varias enfermedades y problemas de salud como la artritis, cáncer, inflamación, el envejecimiento y enfermedades del corazón. Para reducir el impacto de las ROS y sus reacciones en cadena las células ejecutan sistemas antioxidantes defensivos. Los antioxidantes juegan un papel importante en el tratamiento de varias enfermedades crónicas y degenerativas relacionadas a desordenes por su acción captadora de radicales libres. El sistema de defensa antioxidante está constituido por enzimas como superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, y por compuestos de naturaleza no enzimática como: antioxidantes,  $\alpha$  tocoferol, beta-caroteno, vitamina C, glutatión reducido, albúmina, flavonoides y metales de transición como Se, Cu, Zn. <sup>(8, 16- 18)</sup>

La actividad antioxidante de los extractos de especies de salvia guarda relación con el contenido de fenoles totales; por lo tanto presentan extractos ricos en polifenoles (principalmente ácidos fenólicos y flavonoides) que tienen una gran actividad

antioxidante.<sup>(19)</sup> Varias especies de salvia son de interés comercial para la industria farmacéutica y alimentaria como recurso natural de antioxidantes, debido a que los antioxidantes sintéticos están siendo cuestionados por la posibilidad de favorecer la generación de tumores.<sup>(20)</sup>

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los más numerosos y representativos grupos de metabolitos secundarios de las plantas y su relevancia radica en su participación en la fisiología y el metabolismo celular como morfología, crecimiento, reproducción, procesos germinativos, defensa contra plagas y depredadores, entre otros. Estos compuestos están presentes en la mayoría de los productos vegetales consumidos por el hombre. Muchos componentes fenólicos han mostrado ejercer actividad anticancerígena y antimutagénica en mayor o menor medida.<sup>(20, 21)</sup>

La especie Splendens (*Salvia splendens*) es usada en la medicina tradicional mexicana como antidiabético de manera cocida o fresca, esta información tiene como base la bibliografía del legado etnobotánico oaxaqueño.<sup>(22)</sup>

En nuestro país la salvia roja es considerada una planta ornamental por lo tanto, el conocimiento de que esta especie vegetal que también se desarrolla en nuestro país presenta un alto contenido de polifenoles, aumentaría su valor en la medicina tradicional y su uso como alternativa natural preventiva de la salud por su capacidad antioxidante, De igual manera al ser la *S. splendens* una fuente rica en antioxidantes representaría una actividad económica de cultivo alternativo para los agricultores de nuestro país.



Como problema de investigación se plantea la siguiente cuestión: ¿Qué cantidad de polifenoles totales y que capacidad antioxidante presentan las hojas, tallos y flores de la planta *Salvia splendens*?

### **Objetivo general**

1. Cuantificar polifenoles y determinar capacidad antioxidante en tallo, hojas y flores de la planta *Salvia Splendens*.

### **Objetivo específico**

1. Determinar el contenido de polifenoles totales mediante técnica de Folin Ciocalteu expresados en mg equivalentes de catequina /g muestra seca
2. Determinación de actividad antioxidante mediante técnica DPPH expresados en mM equivalentes de Trolox / g muestra seca

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes

Según Moharram et al. <sup>(23)</sup> La composición fenólica de extractos metanólicos al 80% de las hojas de *S. splendens ex Roem & Schult*, mostró doce metabolitos fenólicos, incluidos tres ácidos fenólicos (el ácido cafeico, el ácido rosmarínico, el metil rosmarinato), cuatro glucósidos de flavonas (luteolin 7-O- [4", 6" -di-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosil] - $\beta$ -D-glucopiranosido, apigenina 7-O- $\beta$ -D-rutinósido, cosmosiina y cinarósido), cuatro flavonas aglicona (luteolina, apigenina, pedalitina y crisiliol), una cumarina (6,7-dihidroxycumarina). Esta variedad en su composición polifenólica puede potenciar su efecto antioxidante.

Narayan y Mittal <sup>(24)</sup> realizaron estudios de contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante en extractos (éter de petróleo, acetato de etilo y metanólico) sobre raíces de *Salvia Splendens* recolectadas en las localidades de Bhopal y Jharkand (India), indican que todos los extractos poseían actividad antioxidante in vitro, siendo el extracto metanólico el de mayor contenido de fenoles totales y flavonoides, así mismo fue el de mayor poder antioxidante. Destacan a la *Salvia splendens* como una fuente rica en taninos, flavonoides y glicosidos con amplia validez medicinal.

Estudios realizados por Papiya y Sasmal <sup>(25)</sup> en extractos metanólicos de hojas de *Salvia splendens* recolectadas en la región de Jharkand (India), indicaron que la acción antioxidante de esta especie vegetal está relacionada a la presencia en sus constituyentes de terpenoides, diterpenoides y antocianinas.

Chopra M. et al. <sup>(6)</sup> Reportaron en un estudio realizado en extracto metanólico con hojas de *Salvia splendens* recolectadas en el instituto de tecnología de Birla (India), un alto contenido de flavonoides 117.4 mg equivalentes de quercetina/1 g de extracto metanólico y un contenido fenólico de 17 mg EAG/1 g de extracto metanólico; el extracto metanólico también mostró una significativa propiedad antioxidante.

Los antecedentes mencionados permiten iniciar el estudio en contenido de polifenoles presentes en la *Salvia splendens* y su potencial como fuente natural de antioxidantes.

## **2.2. Bases teóricas de la investigación**

El uso de plantas medicinales es una actividad que se ha desarrollado por varias centurias. En el presente conocemos esta práctica como medicina tradicional, este conocimiento ancestral ha hecho posible utilizar especies vegetales con fines terapéuticos, así mismo, permitió identificar metabolitos que la industria farmacéutica ha utilizado en el desarrollo de medicamentos. Se denomina planta medicinal a aquella que presenta en alguna de sus partes, principios activos, los cuales, producen efectos benéficos en las enfermedades del hombre administrándose en cantidades adecuadas. <sup>(26)</sup>

El 80% de la población mundial, más de cuatro mil millones de personas, utiliza las plantas como principal remedio medicinal, según nos señala la OMS. Esta práctica está asociada al empirismo en muchos casos, y faltan estudios químicos, clínicos y epidemiológicos que confirmen de forma fehaciente los efectos fisiológicos de las plantas y los principios activos responsables. <sup>(27)</sup>

El valor medicinal de la planta curativa se debe a la presencia en el tejido de la planta de una sustancia química — el principio activo — que produce un efecto fisiológico. Muchos de los principios activos son sumamente complejos y ocasionalmente, aún se desconoce su naturaleza química; otros han sido aislados, purificados e incluso, sintetizados o imitados. <sup>(28)</sup>

Las plantas han constituido remedios en la medicina tradicional por cientos de años y han establecido las bases de la farmacología y la farmacia. Hoy en día aun continúan usándose como fuente de compuestos bioactivos de gran interés farmacéutico y agroindustrial. <sup>(29)</sup>

Diversos estudios químicos, farmacológicos y bioquímicos han logrado aislar, cuantificar y reconocer las sustancias responsables del valor medicinal de las plantas, permitiendo avalar su valía medicinal o no.

### **2.2.1. Género Salvia**

#### **2.2.1.1 Principios activos**

El género salvia ha sido objeto de gran interés de estudios químicos debido a su notable contenido de polifenoles (con más de 160 polifenoles identificados algunos de ellos exclusivos del género). Supuestamente, alguno de estos compuestos polifenólicos se originan a partir del ácido cafeico mediante una serie de reacciones de condensación.

Estudios realizados al género salvia dan cuenta de la presencia de abundantes metabolitos de naturaleza terpénica: monoterpenos y sesquiterpenos que son los

constituyentes de sus aceites esenciales, diterpenos como el rosmanol, carnosol, epirosmanol, ácido carnósico y triterpenos resultantes del oleanano y ursano además de esteroides. También contienen cuantiosos compuestos fenólicos: flavonoides (flavona, flavonoles aglicósidos y flavonoles glicósidos), antocianinas y ácidos fenólicos, entre ellos el ácido rosmarínico que presenta una capacidad antioxidante semejante al ácido ascórbico.

La naturaleza de los polifenoles reportados son una muestra del desarrollo en la aplicación terapéutica y fitoquímica del género salvia. <sup>(6, 30, 31)</sup>

#### **2.2.1.2 Farmacología**

El extracto acuoso de *S. africana* L. manifiesta actividad analgésica y antipirética en experimentos realizados con ratones y algunos diterpenos naftoquinónicos (aetiopinona) presentes en la raíz de *S. aethiops* presentan actividad antiinflamatoria y analgésica central y periférica relacionadas aparentemente con una inhibición de 5- LO (5-lipooxigenasa). <sup>(23)</sup>

El extracto acuoso de *Salvia fruticosa* Mill. ha mostrado actividad hipoglucemiante disminuyendo la absorción intestinal de glucosa en conejos, similarmente la *Salvia lavandulifolia* Vahl. ssp. *oxydon* reduce los niveles de glucosa potenciando la liberación de insulina unida a una hiperplasia de las células  $\beta$ -pancreáticas, incrementando la captación periférica de glucosa e inhibiendo su absorción intestinal. <sup>(23)</sup>

Narayan y Mittal <sup>(24)</sup> expresan la acción analgésica y antiinflamatoria de las raíces de *salvia splendens*, también reportan su uso como antiulcerante, laxante, antimicrobiano, hepatoprotector y antihiperlipidémico.

Conforme a la comisión alemana E (guía terapéutica de plantas medicinales) las hojas de *Salvia officinalis* tienen función bactericida, virostática, fungistática, astringente y disminuye la hiperhidrosis. <sup>(30)</sup>

Raíces y rizomas de *Salvia miltiorrhiza Bunge*, se utilizan para el tratamiento de enfermedades coronarias (angina de pecho e infarto de miocardio), también se utilizan en terapia de enfermedad tromboembólica y troboflebítica. <sup>(30)</sup>

Shaheen et al. <sup>(32)</sup> Mencionan que el género *Salvia* es rico en metabolitos secundarios de gran interés biológico como citoprotector, antitumoral y antibacteriano, así mismo el uso como té de hierba se ha realizado para tratar enfermedades coronarias del corazón, enfermedades cerebrovasculares, hepatitis, falla renal, dismenorrea, flatulencia, gastritis, dolor de garganta, psoriasis e insomnio neurasténico.

Extractos hidroetanólicos de *S. officinalis* mostraron buena actividad antiinflamatoria por su capacidad de reprimir la 5-LO (5 lipooxigenasa) y de disminuir los volúmenes de interleucina 8 (IL8) que tiene acción proinflamatoria.

<sup>(33)</sup>

## 2.2.2. *Salvia splendens*

### 2.2.2.1. Taxonomía

<i>Salvia splendens</i>	
Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Genero	Salvia
Especie	<i>Salvia splendens</i>
	Sellow ex wied-Neuw
Nombre común	Salvia roja



Fuente propia

### 2.2.2.2. Clasificación Botánica

**Nombre común** “Salvia roja”, arbusto denso, perpetuo, vertical

**Tallo:** carente de pelos (glabrescente) longitudinalmente presenta estrillas.

Presenta forma cuadrangular con una altura entre 50 y 1.60 m. <sup>(34)</sup>

**Hojas:** de orientación opuesta, forma simple con la orilla dentada, presenta un peciolo con una longitud de 3 a 8 cm, exhibe un limbo de forma ovalada con el haz y el envés glabrescente, la forma del ápice es acuminada. <sup>(34)</sup>

**Inflorescencia:** A semejanza de verticilos (verticilastros), acomodados en racimos a los extremos de los tallos (terminal) con una longitud entre 8-15 cm de largo. <sup>(34)</sup>

**Bracteado:** presenta brácteas escarlatas de formas lancetadas ovaladas puntiagudas. <sup>(34)</sup>

**Flores:** presentan pedicelos circulares pubescentes con una longitud entre 5 y 6 mm; el cáliz es color rojo bilabiadas acampanas, el labio superior presenta 3 venas (nervado), el labio inferior presenta una forma recta bífida; la corola es tubular con dos valvas escarlatas, la mitad inferior es pubescente y la mitad superior es glabra, la dimensión del labio inferior es menor que el labio superior. Asimismo, el labio inferior es trilobulado siendo el lóbulo medio emarginado y más grande que los lóbulos contiguos; Exhibe androceo con dos estambres constituidos por una teca infecunda concrescente y otra funcional; El ovario tiene disposición bicarpelar; el estilo es filiforme aparentemente nace de la base (ginobásico), la morfología del estigma es bífida sutilmente asimétrico, estrecho en el ápice y terminado en una fina punta (subulado) y separados.<sup>(34)</sup>

**Fruto:** presenta cuatro lóbulos (tetracluso) cada uno con su semilla terminando en punta y engrosamiento lateral<sup>(34)</sup>

### **2.2.2.3 Habitación**

Se desarrolla en climas húmedos pedregosos, cuevas de colinas y en sembríos cultivados.<sup>(34)</sup>

## **2.2.3. Información complementaria**

### **2.2.3.1 Radicales libres y oxidación**

La oxidación es un proceso bioquímico de pérdida de electrones siempre asociado a otro de captación que llamamos reducción. Esta oxidación es fundamental para la vida pues participa en los procesos de obtención de la energía celular. Sin



embargo cuando existe un exceso de oxidación aparece el estrés oxidativo <sup>(35)</sup>. El proceso de oxidación crea radicales libres en nuestras células. Un radical libre es un átomo con un número impar de electrones o que tiene un electrón libre en el orbital externo, lo que químicamente le da una condición muy inestable volviéndolo muy activo para oxidar otras moléculas al buscar romper su desequilibrio químico; esto inducirá a la formación de nuevos radicales libres en cadena que producirá daño a las células provocando la muerte celular y lesiones en los tejidos. Son de corta vida media y actúan próximos al lugar donde se generan. (17, 36)

Los radicales libres se clasifican en:

- Especies reactivas de oxígeno (ROS, ERO): radical superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), radical hidroxilo ( $OH^-$ ), radical hidroperóxilo ( $HO_2$ ), oxígeno singlete ( $^1O_2$ ), radical alcóxilo ( $RO^-$ ), radical peróxilo ( $ROO^-$ ), ozono ( $O_3$ ).
- Especies reactivas de nitrógeno (RNS, ERN): Óxido nítrico (NO), Peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), Dióxido de nitrógeno ( $NO_2^-$ ). <sup>(37)</sup>

Las especies reactivas de oxígeno (ROS, ERO) son moléculas químicamente reactivas que contienen oxígeno con capacidad para oxidar proteínas (por oxidación de grupos sulfhidrilos (-SH), grupos aminos y carbonilos de aminoácidos produciendo daño irreversible en la regulación metabólica y genética.), lípidos (por peroxidación lipídica de ácidos grasos polinsaturados y fosfolípidos de las membranas) y ADN (por hidroxilación de las bases nitrogenadas) inhiben y

entrecruzan la producción de proteínas, nucleótidos y ácidos grasos por acción del radical hidróxilo y oxígeno singlete produciendo mutaciones que estarán asociadas a enfermedades de la edad avanzada y el cáncer. <sup>(38)</sup>

La oxidación lipídica en alimentos tiene consecuencias negativas causando decoloración y aromas desagradables. También disminuye el valor nutritivo del alimento y la formación de peróxidos perjudiciales para la salud, además origina aldehídos que son causantes de daño tisular, mutagénesis y carcinoma. <sup>(40)</sup>

Los sistemas generadores de ROS se pueden clasificar como:

- Fuentes endógenas: se producen como resultado del metabolismo de la célula. La cadena de respiración mitocondrial es la principal fuente de producción de ROS celular. Las células fagocitarias al emplear el sistema NADPH oxidasa producen ( $O_2^-$ ); también generan peróxido de nitrógeno (ONOO-) responsable de la peroxidación lipídica. La enzima Xantina oxidasa al actuar como catalizador de hipoxantina. Las reacciones enzimáticas del citocromo P-450 al oxidar ácidos grasos y xenobióticos. <sup>(37,39)</sup>
- Fuentes exógenas: constituidas por el humo de tabaco, solventes, polución ambiental, radiación ultravioleta, hidrocarburos aromáticos, metabolismo de algunos fármacos, drogas, ejercicio extenuante, dieta bajo en antioxidantes y altamente prooxidante. <sup>(37,39)</sup>

### **2.2.3.2 Estrés oxidativo**

El estrés oxidativo ocurre cuando la materia viva es expuesta a factores que desencadenan un desequilibrio en los sistemas oxidantes y antioxidantes de la célula, debido a un aumento en los radicales libres y/o una disminución en los antioxidantes, resultando una mayor concentración de ERO. Frente a esta situación los radicales libres reaccionan con carbohidratos, lípidos, proteínas, ADN y de mantenerse este desajuste en el equilibrio entre los factores prooxidante y los mecanismos antioxidantes provocará alteraciones en los procesos metabólicos ocasionando daño irreparable y posteriormente la muerte celular. <sup>(36, 37,40)</sup>

Los organismos presentan sistemas de defensa endógeno enzimáticos (catalasa, superóxido dismutasa, glutatión reductasa, glutatión peroxidasa) y no enzimáticos responsables de evitar los daños ocasionados por ROS. <sup>(39)</sup>

Procesos relacionados al daño oxidativo y moléculas biológicas.

ENFERMEDADES	DAÑO OXIDATIVO EN LAS MOLECULAS BIOLOGICAS
Envejecimiento	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peroxidación de los ácidos grasos de la membrana celular y daño al ADN.</li> <li>- Los radicales libres toma un electrón de las células tejido de colágeno, provocando que la piel pierda elasticidad y como consecuencia la aparición de arrugas y sequedad.</li> </ul>
Enfermedades del corazón	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peroxidación de lípidos en las partículas de LDL con daño de otros de sus componentes.</li> <li>- Los radicales libres dañan las grasas de la ingesta, llamada “grasa oxidada”, la grasa oxidada es grasa más pegajosa por lo que se adhiere a las paredes de las arterias con mayor facilidad pudiendo causar un infarto de miocardio.</li> </ul>
Diabetes	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Autooxidación de la glucosa.</li> <li>- Disminución de la secreción de insulina en el páncreas por interferencia de los radicales libres.</li> </ul>
Cáncer	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Daño al ADN.</li> </ul>
Cataratas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Modificaciones irreversibles en las proteínas.</li> </ul>
Cuadros inflamatorios crónicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Activación de genes relacionados con la respuesta inflamatoria.</li> </ul>
Enfermedades neurodegenerativas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Radicales libres de oxígeno inducen apoptosis y desdoblamiento de proteínas.</li> </ul>

Fuente. Tomado de (Amaya L et al. 2013)

### 2.2.3.3 Antioxidante

El organismo utiliza mecanismos de protección para responder al efecto dañino de los radicales libres mediante un sistema de defensa formado por agentes antioxidantes. Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. Al interactuar con un radical libre los agentes antioxidantes ceden un electrón oxidándose y volviéndose un radical libre débil carente de toxicidad. <sup>(42)</sup> Entre sus funciones principales están prevenir la formación, reparar el daño, eliminar y elevar la resistencia a ataques de ROS, así también la transformación de metabolitos reactivos en moléculas menos reactivas. <sup>(39)</sup>

Por su función se clasifican como:

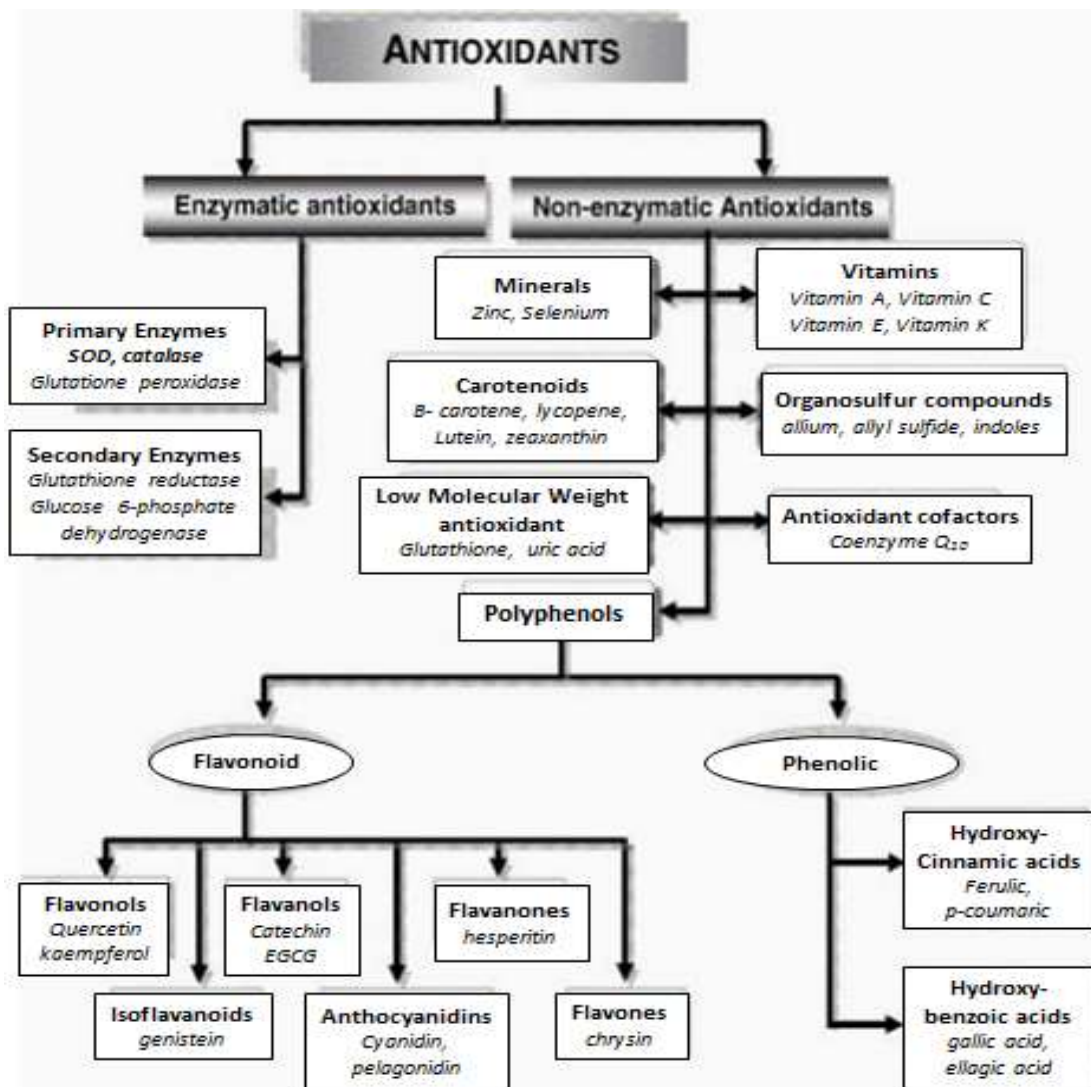
- Antioxidantes primarios enzimáticos endógenos [superóxido dismutasa (SOD) convierte el oxígeno en peróxido de hidrógeno, glutatión peroxidasa (GP<sub>x</sub>): transforma peróxido de oxígeno y peróxido lipídicos en moléculas inocuas, catalasa (CAT) elimina hidroperóxidos y proteínas de ligazón a metales de transición que detienen el uso de hierro indispensable para formar radicales OH]. Evitan la formación de ROS.
- Antioxidantes secundarios no enzimáticos: hidrofílicos (vitamina C, bilirrubina, ácido úrico y albúmina) y lipofílicos (vitamina E, carotenoides, ubiquinona o coenzima Q10).

Funcionan como captadores de ROS impidiendo reacciones en cadena.

- Antioxidantes terciarios (proteasas reparadoras de ADN y metionina sulfóxido reductasa): Funcionan como reparadores de biomoléculas dañadas. (38, 39, 42)

La importancia de los antioxidantes radica en que previenen y alivian afecciones crónicas, cáncer, problemas cardiovasculares, diabetes, hepatitis, catarata, arterioesclerosis e inmunodeficiencia. (38)

### Clasificación de antioxidantes



Fuente: tomado de Shalaby et al. 2013

Por su origen los antioxidantes pueden clasificarse como naturales y sintéticos

- Antioxidantes naturales
  - Antioxidantes endógenos: glutatión (GSH), ácido alfa lipoico (ALA), coenzima Q, ácido úrico, bilirrubina, superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GP<sub>x</sub>), L-carnitina, melatonina, tiorredoxinas (TR<sub>x</sub>) y peroxirredoxinas (PR<sub>x</sub>).<sup>(43, 44)</sup>
  - Antioxidantes exógenos: ácido ascórbico (vitamina C), los tocoferoles, β-carotenos (vitamina A), polifenoles.
- Antioxidantes sintéticos: Son usados en la industria alimentaria, entre los permitidos están: Butilhidroxianisol (BHA), Butil hidroxitolueno (HBT), galato de propilo (PG), terbutil hidroquinona (TBHQ), galato de octilo (OG), galato dodecilo (DG).<sup>(43, 44)</sup> Son antioxidantes efectivos y económicos pero su potencial toxicidad han puesto en observación su uso y consecuente búsqueda de fuentes naturales de antioxidantes que no tengan efectos tóxicos.<sup>(44)</sup>

#### **2.2.3.4 Polifenoles**

Son producto del metabolismo secundario de las plantas. Poseen en su estructura funciones fenol (anillos bencénicos reemplazados por funciones hidroxílicas) de donde proviene su denominación. Constituyen el principal grupo de polifenoles los ácidos fenólicos, estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y los flavonoides.<sup>(45, 46)</sup>

Entre las propiedades organolépticas de los polifenoles están:

- El color de hortalizas y frutos por presencia de antocianinas, el color pardo que presentan es por las quinonas que son producto de la oxidación de los fenoles.
- El sabor amargo en cítricos y aceitunas producto de las flavonas de cítricos y la oleuropeína respectivamente.
- La astringencia del vino debido a proantocianidinas y taninos hidrosolubles.
- Los aromas de los plátanos por presencia de eugenol.<sup>(47)</sup>

Desde el punto de vista de su actividad biológica muchos polifenoles tienen propiedades captadoras de radicales libres, quelación de metales, efectos en vías de señalización celular y expresión genética. La capacidad de los polifenoles de modular actividades enzimáticas e interferir en mecanismos de señalización en los distintos procesos celulares, es debido, en parte, a sus características fisicoquímicas que le permiten participar en reacciones de óxido reducción del metabolismo celular. Estas propiedades podrían estar relacionadas con la prevención de enfermedades cardiovasculares y de algunos tipos de cáncer, evidenciando su potencial benéfico sobre la salud humana.<sup>(45, 46, 48)</sup>

Se clasifican en dos grupos principales según su estructura:

- **Ácidos fenólicos:** son derivados del ácido hidroxicinámico y entre ellos se encuentran: los ácidos cafeico, ferúlico, cumárico y sináptico que se hallan en forma de derivados.



**Flavonoides:** su estructura les permite presentar una diversidad de compuestos como los flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanololes, isoflavonoides, catequinas, calconas, dihidrocalcona, antocianidinas, leucoantocianidinas, flavandiol, proantocianidinas o taninos condensados (taninos no hidrolizables). De entre ellos las especies vegetales tienen como constituyentes mayoritarios a los flavonoles y flavonas, las cuales están presentes en las partes superficiales de los tejidos vegetales brindando protección antioxidante a los tejidos dispuestos en las partes inferiores.<sup>(46)</sup>

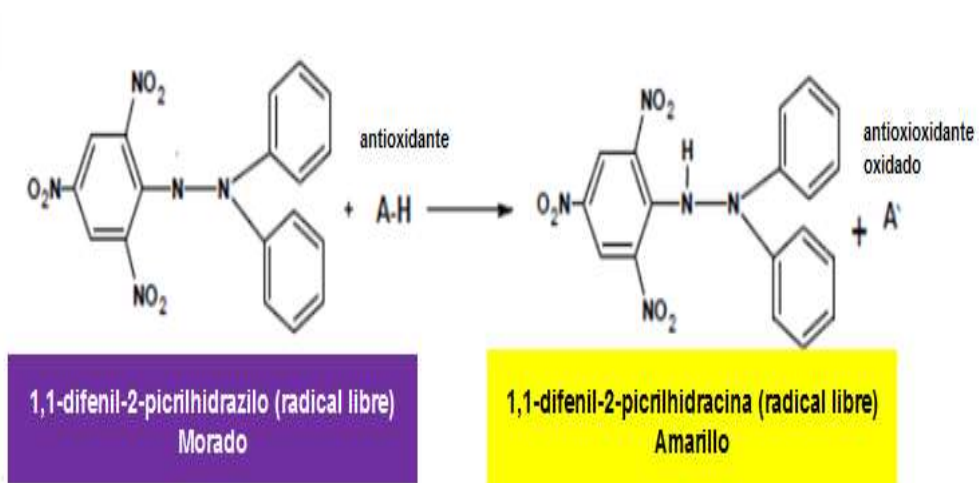
Aunque los compuestos fenólicos pueden tener efectos antinutricionales por interacción con ciertos elementos de la dieta –una ingesta elevada interfiere con la absorción del hierro y puede provocar anemia- su toxicidad en una ingestión moderada es poca, debido a su rápido metabolismo, baja absorción y el eficaz desempeño de una red de detoxificación.<sup>(47)</sup>

#### **2.2.3.5. Método de DPPH (1,1 difenil-2-picril hidrazilo)**

El radical DPPH es estable, de color azul, tiene la capacidad de recibir protones cedidos por elementos antioxidantes transformándose en 1,1-difenil-2-picrilhidracina que es su forma no radicalaria (reducida) y tiene coloración amarilla. Por lo tanto, hay una relación directa entre las propiedades antioxidantes del extracto sometidos al ensayo y la decoloración de la solución.<sup>(51)</sup>

### 2.2.3.6. Mecanismo de acción del radical DPPH (1,1 difenil-2-picril hidrazilo)

Este método fue propuesto por Blois (1958) en el cual se demostró por primera vez la capacidad del radical libre DPPH para aceptar un átomo de hidrógeno ( $H^+$ ) proveniente de una molécula de cisteína. La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) se caracteriza por ser un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. La deslocalización del electrón también le da el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe en metanol a 517 nm. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno el color violeta se desvanece. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros para las propiedades antioxidantes. <sup>(38)</sup>



Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante. Fuente: Bohorquez Ricardo. 2016

### **2.2.3.6. Método de Folin-Ciocalteu**

El método Folin-Ciocalteu es utilizado para medir compuestos fenólicos totales en productos vegetales. El reactivo de Folin-Ciocalteu se fundamenta en que reaccionará con los compuestos fenólicos en un entorno básico intenso de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 5-10 %, en medio acuoso, virando a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo en su conformación contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido) de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad puede ser identificado y cuantificado por espectroscopia de UV/VIS debido a que se absorbe a una longitud de 750 nm y es lo que se mide para evaluar el contenido en polifenoles.

(49, 50)

### **2.2.3.7. Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu:**

El mecanismo de respuesta es una reacción redox, por este motivo puede considerársele como un sistema de medida de la actividad antioxidante total.

Los polifenoles de la muestra se oxidan, lo que genera la aparición de una coloración azulada que exhibe una absorción máxima a 765 nm, el proceso se cuantifica por espectrofotometría basándose en una recta patrón de ácido gálico. Es un método preciso y sensible, susceptible a múltiples variaciones que están

relacionados fundamentalmente a los volúmenes de muestras empleadas en los análisis, las concentraciones de los reactivos y al tiempo de reacción. Las variaciones también se pueden dar en la manera de expresar los resultados, sin embargo, se recomienda al ácido gálico como patrón. Esta experiencia de estudio de los polifenoles totales, es utilizada frecuentemente en la investigación de las cualidades antioxidantes de alimentos vegetales. <sup>(49)</sup>



Mecanismo de reacción de Folin ciocalteu. Fuente: García E et al 2015.

### III. HIPÓTESIS

Hipótesis implícita

## IV. METODOLOGÍA

### 4.1. Diseño de la investigación

El estudio de polifenoles en *Salvia Splendens* corresponde a un trabajo de tipo descriptivo de nivel cuantitativo

#### 4.1.1. Preparación del extracto metanólico

Se realizó el estudio con las partes aéreas de la planta (hojas, tallos y flores), estas partes fueron recolectadas en buen estado de desarrollo vegetativo y secados en estufa BINDER a 45° C por 5 horas. Se procedió luego a la molienda, para ese efecto se utilizó un equipo OSTER SERIE XPERT, obteniendo un polvillo de partículas finas.

Para la preparación de los extractos se usó el método de **extracción exhaustiva**, se seleccionó y rotuló 6 tubos de ensayos; se separaron los tubos de ensayo en grupo de dos y se agregó a cada uno de ellos el peso de las muestras en gramos de hojas (0.2552 g; 0.2506g), flores (0.2505g; 0.2541g) y tallos (0.5015; 0.5070g) de la especie vegetal. Acto seguido se procedió a adicionar a cada tubo 15 ml de una mezcla de metanol (MeOH) al 80% con ácido fórmico al 0.1%. . Se colocaron los tubos con las muestras en un agitador magnético VELP SCIENTIFICA por 30 minutos a 350 rotaciones por minuto, las muestras se taparon con papel metálico para evitar que los analitos se desnaturalicen por acción de la luz. Terminado el tiempo en el agitador magnético se pasan los tubos a la centrifuga BOECO SC-8 en donde se colocaran por 5 minutos a 6000 rpm.

Este proceso se repite en tres ocasiones para arrastrar los analitos posibles de la muestra vegetal. La finalidad de este procedimiento es permitir la comparación del peso de principio activo encontrado por la cantidad de muestra utilizada.

Los productos obtenidos de las extracciones se vierten en fioles de 50 ml las cuales luego se aforan con metanol (MeOH al 80%) + ácido fórmico al 0.1%. Las fioles son envueltas en papel aluminio y se ponen en refrigeración hasta el momento de realizar los análisis.

#### **4.1.2. Preparación de muestra en infusión**

En tres vasos de precipitado se vierte 200 ml de agua tipo II en cada uno, seguidamente serán sometidos a una fuente de calor y llevados a punto de ebullición, posteriormente se retira del fuego y se procede a adicionar 2 gramos de muestra de hojas, 2 gramos de muestra de tallos y 1 gramo de muestra de la flor en cada vaso. Finalmente, se envuelven los vasos de precipitado con papel metálico y se deja reposar por espacio de 5 minutos, terminado el tiempo se procede a filtrar.

Finalmente se deja enfriar para posteriormente proceder a los análisis.

#### **4.1.3. Determinación de polifenoles totales**

- En extracto metanólico: Se rotulan 19 fioles de 10 ml de capacidad, se agregan 2.5 ml de agua desionizada tipo II a cada fiola. La fiola número 1 es la muestra blanco, en las fioles (2-7) se coloca el estándar de catequina en concentraciones de 0.5; 1; 2.5; 5; 7.5; 10 ppm ( $\mu\text{g/ml}$ ) para conseguir la curva de calibración; en las fioles (8 – 11) incorporar 200  $\mu\text{L}$  de extracto metanólico de hojas (SASH), en las fioles (12 – 15) disponer 50  $\mu\text{L}$  de extracto metanólico de flores (SASF), en

las fiolas (16-19) poner 250  $\mu\text{L}$  de extracto metanólico del tallo (SAST); luego a todas las fiolas se añade 500  $\mu\text{l}$  de reactivo de Folin Ciocalteu y se lleva el sistema a oscuridad por un tiempo de 5 minutos.

Transcurrido el tiempo añadimos a las fiolas 2 ml de solución de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 10% en seguida, aforar la fiola con agua desionizada tipo II y someter nuevamente el conjunto a oscuridad por un tiempo de 90 minutos.

Las lecturas se realizan utilizando un espectrofotómetro UNICO UV-2100 a una longitud de onda de 700 nanómetros ( $\lambda=700\text{ nm}$ ).

La cantidad de polifenoles totales se expresan en mg de catequina/g de muestra seca.

Las lecturas de las muestras se realizan en 3 oportunidades.

- En infusión: Se rotulan 13 fiolas de 10 ml de capacidad, en las fiolas (1 - 7) están el blanco y el estándar de catequina en concentraciones de 0.5; 1; 2.5; 5; 7.5; 10 ppm (mg/L) que permitirá obtener la curva de calibración; en las fiolas (8 - 9) se adicionan muestras de analito 100  $\mu\text{L}$  de infusión de hojas (SASHi), en las fiolas (10 - 11) incorporar 100  $\mu\text{L}$  de infusión de flores (SASFi), en las fiolas (12 - 13) disponer 200  $\mu\text{L}$  de infusión de tallo (SASTi), luego a todas las fiolas se añade 500  $\mu\text{l}$  de reactivo de Folin Ciocalteu y se lleva el conjunto a oscuridad por un tiempo de 5 minutos.

Transcurrido el tiempo añadimos a las fiolas 2 ml de solución de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 10% luego, aforar la fiola con agua desionizada tipo II y someter el conjunto a oscuridad por un tiempo de 90 minutos.

Las lecturas se realizan utilizando un espectrofotómetro UNICO UV-2100 a una longitud de onda de 700 nanómetros ( $\lambda=700$  nm).

La cantidad de polifenoles totales se expresan en mg de catequina/g de muestra seca.

Las lecturas de las muestras se realizan por triplicado.

#### **4.1.3. Determinación de capacidad antioxidante por método DPPH**

La actividad antioxidante se establece por el valor de porcentaje de inhibición del radical DPPH que es neutralizado por las muestras de extracto metanólico e infusión de la planta *Salvia splendens*<sup>(23)</sup>

Para evaluar el porcentaje de inhibición de radicales libres se preparan diluciones de infusiones y extractos metanólicos de las hojas, tallos y flores de *Salvia splendens* en proporción (1:10) [agua desionizada 900  $\mu$ L mas 100  $\mu$ L de infusión o extracto metanólico de la planta en estudio].

Se emplea el Trolox como estándar a concentraciones de 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 mM, para obtener la curva de calibración.

En una cubeta de espectrofotómetro se coloca 1450  $\mu$ l de DPPH 0.06mM, se toma la medida de absorbancia a tiempo cero, luego se adiciona 50  $\mu$ l de muestra con analito de *Salvia splendens* (extracto metanólico o infusión) y se vuelve a medir la absorbancia luego de 15 minutos. La absorbancia se ejecuta a una longitud de onda de 515 nm y se realiza dos veces por muestra



La siguiente fórmula se aplica para conocer el porcentaje de inhibición de las muestras.

Baizabal R (2010)<sup>24</sup>

$$\% \text{ inhibición de radicales libres} = \frac{\text{absorbancia inicial} - \text{absorbancia final}}{\text{absorbancia inicial}} \times 100$$

**Absorbancia inicial**

#### 4.2. Población y muestra

**Población vegetal:** La recolección de las partes aéreas de *Salvia splendens* (hojas, tallos y flores), se realizaron la localidad de Lurín, provincia de Lima, ubicado en el departamento de Lima.

#### 4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
Contenido de polifenoles totales	Los polifenoles son compuestos fotoquímicos secundarios al metabolismo de las plantas. Se les han atribuido diversos beneficios para la salud como antioxidantes	Cuantificación de polifenoles por técnica de Folin Ciocalteu	mg equivalente de catequina /g muestras seca
Capacidad antioxidante	Capacidad que tiene una molécula para retardar o prevenir reacciones de oxidación las cuales producen radicales libres que propician daño celular.	Captación de radicales libres por técnica de DPPH	mM equivalente de Trolox /g muestra seca

#### **4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

Se utilizó la observación directa, medición y registro de las lecturas en el espectrofotómetro UNICO UV-2100. Los elementos obtenidos serán registrados en fichas de recolección de datos.

#### **4.5. Plan de análisis**

A través de gráficos y tablas se presenta el análisis del contenido de polifenoles expresados en mg equivalentes de catequina/g de muestra seca y su desviación estándar, Los resultados de capacidad antioxidante se expresaron en mM equivalentes de trolox /g de muestra seca. Se utiliza la estadística descriptiva teniendo en cuenta los datos según las medidas de tendencia central como el promedio y la desviación estándar.

Para el análisis de los datos se utilizó el sistema operativo MICROSOFT OFFICE EXCEL 2010, dirigido a establecer el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de *Salvia splendens*.

#### 4.6. Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLE	TIPO DE INVESTIGACIÓN	METODOLOGÍA
<p>Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante en <i>Salvia splendens</i> (Salvia roja)</p>	<p>¿Cuál es el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en <i>salvia splendens</i>?</p>	<p><b>Objetivos generales.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar contenido de polifenoles y propiedad antioxidante en hojas, tallos y flores de <i>Salvia Splendens</i></li> </ul> <p><b>Objetivos específicos.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar polifenoles por el método de Folin-Ciocalteu y expresarlos en mg de catequina eq/g de muestra seca</li> <li>Determinar capacidad antioxidante utilizando método DPPH y expresar los resultados como mM de Trolox equivalente/g de muestra seca.</li> </ul>	<p>Implícito</p>	<p>-Contenido de Polifenoles totales</p> <p>- Capacidad antioxidante</p>	<p>Estudio de tipo descriptivo</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Determinación de polifenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu</li> <li>Determinación de capacidad antioxidante según el método de DPPH.</li> </ul>

#### **4.7 Principios éticos**

Se incentiva, apoya el conocimiento en el desarrollo, ampliación de la medicina tradicional sobre el uso de la *Salvia splendens*, no solo para proteger, conservar, amparar su herencia cultural, también se pretende registrar información importante y verificar científicamente propiedades terapéuticas que puedan aprovecharse como nuevas fuentes para conseguir la formulación de novedosos medicamentos o la posibilidad –también- de ser fuente de sustancia fenólicas de actividad antioxidante .Es un propósito del mismo modo contribuir al resguardo de la biodiversidad, puesto que es un bien que pertenece a toda la comunidad.

## V. RESULTADOS

### 5.1. Resultados

**Tabla 1: Contenido de polifenoles totales por gramo de muestra seca en hojas, tallo y flor de *Salvia splendens*.**

Muestra	Parte de la planta	extracción	Polifenoles totales (mg de catequina eq./g de muestra seca )
Salvia splendens	Hoja	Metanólico	12.44 ± 0.32
Salvia splendens	Flor	Metanólico	36.40 ± 2.04
Salvia splendens	Tallo	Metanólico	4.43 ± 0.20
Salvia splendens	Hoja	Infusión	19.43 ± 0.42
Salvia splendens	Flor	Infusión	46.99 ± 1.07
Salvia splendens	Tallo	infusión	7.00 ± 0.18

**Fuente: Datos propios de la investigación**

**Tabla 2: Capacidad antioxidante en muestras de hojas, tallo y flor de *Salvia splendens*.**

<b>Muestra</b>	<b>Parte de la planta</b>	<b>extracción</b>	<b>DPPH (mM Trolox Eq/1 g muestra seca</b>
Salvia splendens	Hoja	Metanólico	147.19 ± 10.26
Salvia splendens	Flor	Metanólico	334.06 ± 10.21
Salvia splendens	Tallo	Metanólico	147.73 ± 20.15
Salvia splendens	Hoja	Infusión	1143.64 ± 77.49
Salvia splendens	flor	Infusión	1333.44 ± 70.47
Salvia splendens	tallo	Infusión	376.01 ± 31.38

**Fuente: Datos propios de la investigación**

## 5.2. Análisis de resultados

Se realizó en esta investigación un estudio para determinar el contenido de polifenoles totales y evaluar la capacidad antioxidante de extractos metanólicos e infusiones de partes aéreas en *Salvia splendens* (hojas, tallos y flores)

La determinación de polifenoles totales se realizó por el método de Folin-Ciocalteu. Este procedimiento se sostiene en la cualidad que tienen los fenoles de reaccionar con sustancias oxidantes a pH alcalino emitiendo una tonalidad azulada que puede medirse por métodos espectrofotométricos a 760 nm.

El reactivo de Folin Ciocalteu está constituido por molibdato y tungsteno sódico, que reaccionaran con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. Al reaccionar las dos sales forman ácido fosfomolibdotúngstico (color amarillo) que al ser reducido por los fenoles presentes se torna a una coloración azulada intensa que es lo que se mide para cuantificar polifenoles. <sup>(52, 53)</sup>

Los valores finales de contenido de polifenoles que resultaron del análisis de los extractos metanólicos e infusiones objetos de estudio se expresan en mg equivalente de catequina / g de muestra seca.

Se observa que dentro de los extractos metanólicos, el de las flores presenta el mayor contenido fenólico **36.40 ± 2.04**, seguido por el de hojas **12.44 ± 0.32** y tallo **4.43 ± 0.20** todas expresados en mg equivalente de catequina /g de muestra seca y la muestra de infusión de flores tiene mayor presencia de fenoles **46.99 ± 1.07**, seguido por el

de las hojas **19.43 ± 0.42** y tallo **7.00 ± 0.18** todos expresados en mg equivalente de catequina /g de muestra seca. (tabla1).

Según García et al. <sup>(52)</sup> el método de Folin ciocalteu es un método preciso, sensible, susceptible a padecer variaciones, básicamente correspondiente a volúmenes de muestra a analizar, concentración de reactivos, también pueden suceder variaciones en el modo de dar los resultados. No obstante, recomienda el ácido gálico como muestra patrón.

Un estudio de Narayan S. et al. <sup>(24)</sup> en extracto de éter de petróleo, acetato de etilo y metanólico a base de raíces de *Salvia splendens* recolectados en la zona de Bhopal, India; dieron como resultado que el contenido de fenoles totales fue nulo en el extracto de éter de petróleo, en los extractos de acetato de etilo y metanólico a concentraciones de 1 mg/ml se encontró **202.06 ± 0.611** y **213.0 ± 0.721** mg EAG/g de muestra respectivamente. Las lecturas indican al extracto metanólico como el que mayor cantidad de polifenoles posee por lo tanto mayor actividad antioxidante. Se utilizó como estándar al ácido gálico.

Chopra M. et al. <sup>(6)</sup> realizó estudios en hojas de *Salvia splendens*, preparó extractos con solventes de polaridad creciente (éter de petróleo, cloroformo y metanol). Utilizó el método de Folin ciocalteu para medir contenido de polifenoles y empleo el ácido gálico como estándar. El extracto metanólico mostro mayor concentración de fenoles **17** mg EAG /1g de muestra seca. Resultado distante a lo obtenido por Narayan et al <sup>(24)</sup>



Estudios en otras especies de *Salvia* también muestran su naturaleza como fuente de fenoles naturales. Reina F. et al. cuantificaron polifenoles en *Salvia officinalis* L utilizando etanol como solvente absoluto y el método de Folin Ciocalteu para cuantificarlos, obtuvieron una lectura de **348,9** mg EAG /g de muestra evidenciando la concentración de polifenoles. <sup>(45)</sup>

Según Ibrahim T. en un estudio en partes aéreas de *Salvia bicolor* determino que el contenido de fenoles totales es de **326.76 ± 1.62** mg EAG/g de muestra seca. Siendo la *Salvia bicolor* otra de las especies con alto contenido de fenoles. <sup>(55)</sup>

No existe una clasificación para definir que el contenido de fenoles en plantas sea alto o bajo, sin embargo hay referencias de un contenido aceptable de fenoles (un valor de 60 mg EAG/g de extracto es considerado “moderado contenido” de fenoles cuando se usa el reactivo de Folin ciocalteu). <sup>(54)</sup>

Según un estudio del Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo de la Universidad Politécnica de Valencia realizado por Periche A. et al. <sup>(58)</sup> muestra que el estudio del contenido de fenoles totales dieron como resultado **56.74** mg EAG/gramo de estevia en extractos acuosos y **61.50** mg EAG/gramo de estevia en etanólicos a temperatura de ambiente. Los valores obtenidos son semejantes a los conseguidos a 50°C pero están marcadamente por debajo de resultados alcanzados a mayor temperatura (70° y 90°C). Las mediciones se hicieron a intervalos de 1, 5, 20 y 40 minutos. Es importante el rol de la temperatura en la sustracción de compuestos fenólicos. Entonces el uso de temperaturas altas (90° C) optimizara la extracción de fenoles en tiempos cortos de infusión.

Estudios realizados por Beltran Y. et al. en extractos preparados con solventes de diferente polaridad de *pleutorus sp.* (seta comestible) mostraron que los niveles de extracción de polifenoles tienen el siguiente orden de solventes: agua>etanol>acetona>acetato de etilo>n-hexano.<sup>(59)</sup> Dado que los polifenoles y flavonoides son de naturaleza polar se usan solventes polares como el etanol para extraerlos.<sup>(60)</sup>

Muñoz W. et al. en un trabajo de investigación cuyo objetivo era definir el contenido fenólico en *Campomanesia lineatifolia* (champa) preparo extractos usando como solvente agua, etanol y etanol-agua (7:3) y sometidos a temperaturas de 20, 50, 70 °C observó rendimientos mayores de componentes fenólicos en los extractos acuosos siendo el extracto etanólico el que presentó niveles más bajos. El incremento de la temperatura podría activar enzimas que metabolizan compuestos complejos creando puentes de hidrogeno con los componentes fenólicos facilitando su extracción. En la extracción de polifenoles de extractos vegetales, el tipo de solvente a emplear determina la capacidad de extracción de elementos fenólicos.

No podríamos decir por los antecedentes vistos que los extractos e infusiones de *Salvia splendens* realizados tienen un moderado-bajo contenido de polifenoles pues la variable en que fueron expresados los resultados no permiten compararlos con otros estudios. Sin embargo, se puede afirmar que si presentan contenido fenólico pues los valores están relacionados a la presencia de fenoles en sus estructuras. En cuanto a las infusiones, la alta temperatura y el agua como solvente polar propiciaron lecturas mayores de contenido de polifenoles que en los extractos metanólicos.

Respecto a la capacidad antioxidante los estudios se realizaron mediante el ensayo del radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo). El radical reacciona frente a sustancias antioxidantes por medio de un proceso que se caracteriza por la donación de un átomo de hidrogeno por parte del agente antioxidante.<sup>(56)</sup> Los resultados fueron expresados en mM equivalente de trolox/g de muestra seca

Los resultados obtenidos en la tabla 2, evidencian que la capacidad antioxidante de las infusiones del tallo **376.01 ± 31.38**, hojas **1143.64 ± 77.49** y de flores **1333.44 ± 70.47** mM trolox eq/g de muestra seca respectivamente; son superiores a las obtenidas por extracto metanólico de tallo **147.73 ± 20.15**, hojas **147.19 ± 10.26** y las flores **334.06 ± 10.21** mM trolox eq/g de muestra seca respectivamente. Los resultados indican que todos los extractos e infusiones tuvieron la capacidad de atrapar radicales DPPH.

Estudios de radical DPPH realizados por Zengin G et al. en extractos con soluciones de diclorometano, metanólico y agua, mostraron los siguientes valores respectivamente: en *Salvia beflaroclanea* **7.28 ± 0.62; 49.50 ± 0.03; 144.82 ± 0.37** , *Salvia eufratica var. Leiocalicina* **3.76 ± 0.20; 195.91 ± 0.76; 189.98 ± 1.22** y *Salvia verticilata* **66.56 ± 3.35; 321.81 ± 17.84; 382.74±3.04** todos expresados en mg equivalente de trolox /g muestra. Siendo el extracto acuoso el de mayor actividad antioxidante.<sup>(61)</sup>

Según Vásquez A. el extracto etanólico de *Salvia aratocensis* presenta mayor capacidad para aprisionar radicales DPPH **0.0011 ± 0.0001** mM Trolox eq/g muestra, de la misma manera posee presencia de polifenoles totales **0.31 ± 0.05** mg EAG/g de muestra.<sup>(57)</sup>

En estudios realizados por Paredes-Ruiz F en extracto acuoso de Muérdago, obtuvo mayores compuestos fenólicos y acción antioxidante por medio de un extracto acuoso (agua en punto de ebullición)<sup>(62)</sup>.

Cañigüeral S observó una mayor capacidad antioxidante en las infusiones de especie *Salvia Lavandufolia* porque los polifenoles presentan grupos hidroxilos que favorecen su extracción simultánea con agua caliente, metanol, etanol y compuestos hidroalcohólicos (habitualmente entre el 50 y 70%)<sup>(63)</sup>

Por los antecedentes podemos decir que los resultados obtenidos en la capacidad antioxidante con DPPH tiene relación con el contenido de polifenoles totales presentes en los extractos metanólicos e infusiones de *Salvia splendens*.

## VI. CONCLUSIONES

1. Los extractos metanólicos e infusiones de *Salvia splendens* presentan contenido de polifenoles y capacidad antioxidante
2. Se determinó la concentración de polifenoles en *Salvia splendens*. El mejor resultado se obtuvo en la infusión de flores **46.99 ± 1.07** mg de catequina eq/g de muestra seca seguida por la concentración en extracto metanólico de las flores **36.40 ± 2.04** mg de catequina eq. /g de muestra seca.
3. En cuanto a capacidad antioxidante la muestra de infusión de las flores mostró mayor efecto antioxidante que el resto de muestras en infusión (**1333.44 ± 70.47** mM Trolox eq/g de muestra seca), Con respecto a los extractos metanólicos fue el de la flor (**334.06 ± 10.21** mM Trolox eq/g de muestra seca) la que obtuvo mayor efecto antioxidante.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Walker J, Sytsma K, Treutlein J y Wink M. *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe *Mentheae*. *Am. J. Bot* [internet]. 2004 [consultado el 18 de nov 2019]; 91(7): 1115. Disponible en: <https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.3732/ajb.91.7.1115>
2. Alimpic A, Kotur N, Stankovic B, Marin P, Matevski V, Al Sheet Najat B, et al. The in vitro antioxidative and cytotoxic effects of selected *Salvia* species water extracts. *J Appl Bot and Food Qual* [internet]. 2015 [citado 18 nov 2019]; 88(1):115-116. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Ana\\_Alimpic\\_Aradski/publication/285219239\\_The\\_in\\_vitro\\_antioxidative\\_and\\_cytotoxic\\_effects\\_of\\_selected\\_Salvia\\_species\\_water\\_extracts/links/5666cbd308ae15e74634dd01/The-in-vitro-antioxidative-and-cytotoxic-effects-of-selected-Salvia-species-water-extracts.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Ana_Alimpic_Aradski/publication/285219239_The_in_vitro_antioxidative_and_cytotoxic_effects_of_selected_Salvia_species_water_extracts/links/5666cbd308ae15e74634dd01/The-in-vitro-antioxidative-and-cytotoxic-effects-of-selected-Salvia-species-water-extracts.pdf)
3. Farhat M, Landoulsi A, Chaouch-Hamada R, Sotomayor J, y Jordan M. Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of *Salvia* species growing in different habitats. *Ind Crops Prod* [internet]. 2013 [citado 18 nov 2019]; 49. 904-905. Disponible en: <https://sci-hub.tw/10.1016/j.indcrop.2013.06.047>
4. Jeshvaghani Z, Rahimmalek M, Talebi M, y Goli, S. Comparison of total phenolic content and antioxidant activity in different *Salvia* species using three model systems. *Ind Crops Prod* [internet]. 2015 [citado 18 nov 2019]; 77:409. disponible en: <https://sci-hub.tw/10.1016/j.indcrop.2015.09.005>

5. Shaheen U, Hussain M y Ammar H. Cytotoxicity and Antioxidant Activity of New Biologically Active Constituents from *Salvia Lanigra* and *Salvia Splendens*. *Phcog J*[internet]. 2011[citado 18 nov 2019]; 3(21) 36. Disponible en: <https://sci-hub.tw/10.5530/pj.2011.21.7>
6. Chopra M, Mazumder P, Sasmal D, y Patro S. Phytochemical, antioxidant and antimicrobial studies of *Salvia splendens* leaves. *J. chem. Pharm* [internet]. 2015 [citado 18 nov 2019]; 7(10).724. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Sanjeeb\\_Patro2/publication/303748149\\_Phytochemical\\_antioxidant\\_and\\_antimicrobial\\_studies\\_of\\_Salvia\\_splendens\\_leaves](https://www.researchgate.net/profile/Sanjeeb_Patro2/publication/303748149_Phytochemical_antioxidant_and_antimicrobial_studies_of_Salvia_splendens_leaves)
7. Li S, Li SK, Li HB, Xu XR, Deng GF y Xu DP. Antioxidant capacities of herbal infusions. En: Preedy V editor. *Processing and impact on antioxidants in beverages*. 1 ed. Londres: Academic Press; 2014.p. 41-50.
8. Zhao G, Xiang Z, Ye T, Yuan Y y Guo Z. Antioxidant activities of *Salvia miltiorrhiza* and *Panax notoginseng*. *Food chem* [internet]. 2006 [citado el 18 nov 2019]; 99(4): 767-774.Disponible en: <https://sci-hub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124047389000052>
9. Finkel T. Oxygen radicals and signaling. *Curr Opin Cell Biol* [internet]. 1998 [citado el 18 nov 2019]; 10(2): 248-253.disponible en: <https://sci-hub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0955067498801476>
10. Li Z, Xu X, Leng X, He M, Wang J, Cheng S y Wu H. Roles of reactive oxygen species in cell signaling pathways and immune responses to viral infections. *Arch virol* [internet]. 2016 [citado el 18 nov 2019]; 162(3):603–610. Disponible en: <https://sci-hub.tw/10.1042/0300-5127:0290345>

11. Halliwell B, Gutteridge J, Cross C Free radicals, antioxidants, and human disease: How are we now? *J Lab Clin Med* [internet]. 1992 [citado el 18 nov 2019]; 119: 598-62. Disponible en: <https://sci-hub.tw/10.1042/0300-5127:0290345>.
12. Sastre J, Pallardo F, Vina J. Mitochondrial oxidative stress plays a key role in aging and apoptosis. *IUBMB Life* [internet]. 2000 [citado el 18 nov 2019]; 49: 427-435. Disponible en: <https://sci-hub.tw/https://iubmb.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1080/152165400410281>
13. Takabe W, Niki E, Uchida K, Yamada S, Satoh K, Noguchi N. Oxidative stress promotes the development of transformation: Involvement of a potent mutagenic lipid peroxidation product, acrolein. *Carcinogenesis* [internet]. 2001 [citado el 18 nov 2019]; 22: 935-941. Disponible en: <https://sci-hub.tw/https://academic.oup.com/carcin/article/22/6/935/2733840>
14. Khan M, Baseer A. Increased malondialdehyde levels in coronary heart disease. *J Pak Med Assoc* [internet]. 2000 [citado el 18 nov 2019]; 50: 261-264. Disponible en: [https://sci-hub.tw/https://www.jpma.org.pk/article-details/3059?article\\_id=3059](https://sci-hub.tw/https://www.jpma.org.pk/article-details/3059?article_id=3059)
15. Mora A, Paya M, Rios L, Alcaraz M. Structure-activity relationships of polymethoxyflavones and other flavonoids as inhibitors of non-enzymic lipid peroxidation. *Biochem. Pharmacol* [internet]. 1990 [citado el 18 nov 2019]; 40: 793-797. Disponible en: [https://sci-hub.tw/10.1016/0006-2952\(90\)90317-e](https://sci-hub.tw/10.1016/0006-2952(90)90317-e)
16. Castañeda C, Ramos E, Ibáñez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas *Rev. Hor. Med*[internet]. 2008[citado el 18 de nov 2019]; 8(1): 56-72. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rev\\_academia/2008\\_n1/pdf/a11v15n1.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rev_academia/2008_n1/pdf/a11v15n1.pdf)



17. Cheesman K, Slater H. An introduction to free radicals biochemistry. British Medical Bulletin [internet].1993 [citado el 18 nov 2019]; 49:481-493. Disponible en: <https://sci-hub.tw/https://academic.oup.com/bmb/article-abstract/49/3/481/299901>
18. Rauter P, Dias C, Martins A, Branco I, Neng N, Nogueira J, et al. Non-toxic *Salvia sclareoides* Brot. extracts as a source of functional food ingredients: phenolic profile, antioxidant activity and prion binding properties. Food Chem [internet]. 2012 [citado el 18 nov 2019]; 132, 1930–1935. Disponible en: <https://sci-hub.tw/10.1016/j.foodchem.2011.12.028>
19. Roby M, Sarhan M, Selim K, Khalel K. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. Ind. Crops Prod [internet]. 2013 [citado el 18 nov 2019] 43, 827–831. Disponible en: <https://sci-hub.tw/10.1016/j.indcrop.2012.08.029>
20. Novoa A, Motidome M, Mancini-Filho J, Linares A, Tanae M, Torres L, et al. Actividad antioxidante y ácidos fenólicos del alga marina *Bryothamnion triquetrum* (S.G.Gmelin). Rev Bras Cienc Farm [internet]. 2001 [citado el 18 de nov 2019]; 37 (3): 373-382. disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/255637210\\_Actividad\\_antioxidante\\_y\\_acidos\\_fenolicos\\_del\\_alga\\_marina\\_Bryothamnion\\_triquetrum\\_SGGmelin\\_Howe](https://www.researchgate.net/publication/255637210_Actividad_antioxidante_y_acidos_fenolicos_del_alga_marina_Bryothamnion_triquetrum_SGGmelin_Howe)
21. Jaberian H, Pir K, Nazari J. Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. Food Chem [internet]. 2013 [citado el 18 nov 2019]; 136,237–244. disponible en: <https://sci-hub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814612011983>

22. Castro J, Villa R, Ramírez G, Mosso G. Uso medicinal de plantas antidiabéticas en el legado etnobotánico oaxaqueño. Rev. Cub. de plantas medicinales [internet].2004[citado el 20 de nov 2019];19(1):101-120. disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/36/62>
23. Moharran F, Marzouk M, El-Shenawy, Gaara A, El Kady W. Perfil polifenólico y actividad biológica de hojas de *Salvia splendens*. J. Pharm. Pharmacol [internet]. 2012 [citado el 20 nov 2019]; 64(11):1678-1687.disponible en: <https://sci-hub.tw/10.1111/j.2042-7158.2012.01544.x>
24. Narayan S y Mittal A. *Salvia splendens* roem ex schult: a review of phytochemical and pharmacological studies. World J. Pharm. Res [internet]. 2015 [citado el 20 nov de 2019]; 4 (8): 957 – 964. Disponible en: <https://www.wjpr.net/index.php/download/article/1438325897.pdf>
25. Papiya M, Sasmal D. Comparative study of in vitro antioxidant activity of the methanolic extracts of *Salvia splendens* and *Pterospermum acerifolium*. Pharmacologia [internet], 2012 [citado el 20 nov de 2019]; 3(9): 444-449.Disponible en: <https://scialert.net/abstract/?doi=pharmacologia.2012.444.449>
26. Pérez, C. El Uso de las Plantas Medicinales. Revista Intercultural. [internet]. 2008 [citado el 21 nov 2019]; 1: 23-26 Disponible en: [http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/8921/1/tra6\\_p23-26\\_2010-0.pdf](http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/8921/1/tra6_p23-26_2010-0.pdf)
27. Beyra A, León M, Iglesias E, Ferrándiz D, Herrera R, Volpato G. et al. Estudios etnobotánicos sobre plantas medicinales en la provincia de Camagüey (Cuba). Rev. Anales del Jardín Botánico de Madrid [internet]. 2004 [citado el 21 de nov 2019]; 61(2): 185-204. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/556/55661207.pdf>

28. Russi G, Hernández N, López R. Manual uso y manejo de plantas aromáticas y medicinales en diferentes procesos productivo. Colombia. Instituto técnico agrícola de Guadalajara de Buga. 2006. Disponible en: <http://www.gipag.org/archivos/medicinal.pdf>
29. Rehecho S, Uriarte-Pueyo I, Calvo J, Vivas L y Calvo M. Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Nor-Yauyos, a part of the Landscape Reserve Nor-Yauyos-Cochas, Peru. *J. Ethnopharmacol* [internet], 2011 [citado el 21 nov 2019]; 133(1), 75-85. Disponible en: <https://sci-hub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874110006446>
30. Ortega T, Carretero E, Villar del fresno A. Salvia Fitoquímica, farmacología y terapéutica. *Farmacia profesional*. Agosto 2002; 16(7):59-64. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-salvia-fitoquimica-farmacologia-terapeutica-13034818>
31. Lu Y, Foo L. Polyphenolics of Salvia - a review. *Phytochemistry* [internet], 2002 [citado el 21 de nov 2019]; 59(2): 117-140. Disponible en: <https://sci-hub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942201004150>
32. Shaheen U, Hussain M, y Ammar H. Cytotoxicity and Antioxidant Activity of New Biologically Active Constituents from Salvia Lanigra and Salvia Splendens. *Phcog J* [internet], 2011 [citado el 21 de nov 2019]; 3(21): 36–48. Disponible en: <https://sci-hub.tw/10.5530/pj.2011.21.7>

33. Pereira O, Catarino M, Afonso A, Silva A y Cardoso S. Salvia elegans, Salvia greggii and Salvia officinalis Decoctions: Antioxidant Activities and Inhibition of Carbohydrate and Lipid Metabolic Enzymes. *Molecules* [internet]. 2018 [citado el 21 de nov 2019]; 23(12): 3169. Disponible en: <https://sci-hub.tw/https://www.mdpi.com/1420-3049/23/12/3169>
34. Loja B. Contribución al estudio florístico de la provincia de Concepción, (Junín): Dicotiledóneas.[tesis].Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.Facultad de ciencias biológicas;2002.disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtualData/Tesis/Basic/Loja\\_H\\_B/t\\_completo.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtualData/Tesis/Basic/Loja_H_B/t_completo.pdf)
35. Elejalde J. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *An. Med. Interna* [internet]. 2001[citado el 22 de nov 2019]; 18(6): 50,51. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/ami/v18n6/revision1.pdf>
36. Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cub Med Mil* [internet]. 2002[citado el 22 de nov 2019]; 31(2):126-133. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-655720020002000009&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-655720020002000009&lng=es&nrm=iso). ISSN 0138-6557.
37. Amaya L, Portillo C. Determinación de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el ingenio Chaparrastique por el método de espectrofotometría ultravioleta-visible [trabajo de graduación en internet]. [El salvador]: Universidad del Salvador, 2013 [citado el 22 de nov 2019]. Recuperado a partir de: <http://ri.ues.edu.sv/5311/1/16103410.pdf>

38. Tovar del Rio, J. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecorregión cafetera [trabajo de fin de grado en internet]. [Pereira]: Universidad tecnológica de Pereira, 2013 [citado el 22 de nov 2019]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/3636/54763T736.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
39. Martínez, M. Actividad neuroprotectora del aceite esencial de Salvia lavandulifolia Vahl [Tesis doctoral en internet]. [Madrid]: Universidad Complutense de Madrid, 2013 [citado el 23 de nov 2019]. Recuperado a partir de: <https://eprints.ucm.es/24863/1/T35267.pdf>
40. Reina F, Roche L, Bianchi M, Languasco J, y Della Rocca P. Análisis químico de las especias: Tomillo y Salvia. Proyecciones [internet]. 2016 [citado 23 de nov 2019]; 14(1):89-96. Disponible en: [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/57839/CONICET\\_Digital\\_Nro.40205e38-acea-479f-b987-bbc923754695\\_X.pdf?sequence=5&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/57839/CONICET_Digital_Nro.40205e38-acea-479f-b987-bbc923754695_X.pdf?sequence=5&isAllowed=y)
41. Gutiérrez J. ¿Qué sabe usted acerca de... radicales libres? Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas [Internet]. 2006 [citado el 23 de nov 2019]; 37(4):69-73. Disponible en: <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/5793740>
42. Guerra M. Radicales libres y estrés oxidativo. Laboratorio actual [internet]. 2009 [citado el 23 de nov 2019]; 41:41-48. Disponible en: [http://abj.org.co/images/revistas/vol\\_41/Pag.%2041-48%20Radicales%20libres%20y%20estr%C3%A9s%20oxidativo.pdf](http://abj.org.co/images/revistas/vol_41/Pag.%2041-48%20Radicales%20libres%20y%20estr%C3%A9s%20oxidativo.pdf)

43. Shalaby E y Shanab S. Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *Afr J Pharm Pharmacol* [internet]. 2013 [citado el 23 nov 2019]; 7(10): 528-539. Disponible en: <https://sci-hub.tw/10.5897/AJPP2013>
44. Gallego Iradi María. Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles [tesis doctoral]. [Barcelona]: Universitat Politècnica de Catalunya, 2016 [citado el 24 de nov 2019]. Recuperado a partir de : <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/105811/TMGGI1de1.pdf>
45. Reina FD, Roche LA, Bianchi MA, Languasco JM, Della Rocca P. Análisis químico de las especies tomillo y salvia. *Proyección* [internet]. 2016 [citado el 24 de nov 2019]; 14 (1): 89, 96.
46. Delgado M. Perspectiva actual de los polifenoles en México. *Rev. Entre textos*. [Internet]. 2016 [citado el 24 de nov 2019]; 21 (7):1-12. Disponible en: <http://entretextos.leon.uia.mx/num/21/PDF/ENT21-1.pdf>
47. Eva GC. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Rev. OFFARM* [internet]. 2004 [citado el 24 de nov 2019]; 23(6): 80-84: disponible en: [https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/35101196/Compuestos\\_fenolicos.pdf?response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DAMBITO\\_FARMACEUTICO.pdf&X-Amz-Algorithm=AWS4-HMAC-SHA256&X-Amz-Credential=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A%2F20191201%2Fus-east-1%2Fs3%2Faws4\\_request&X-Amz-Date=20191201T034928Z&X-Amz-Expires=3600&X-Amz-SignedHeaders=host&X-Amz-Signature=cac04af6df4442135815079b6dcb327a0a576940b8dd798bdd79c860c3d57d6f](https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/35101196/Compuestos_fenolicos.pdf?response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DAMBITO_FARMACEUTICO.pdf&X-Amz-Algorithm=AWS4-HMAC-SHA256&X-Amz-Credential=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A%2F20191201%2Fus-east-1%2Fs3%2Faws4_request&X-Amz-Date=20191201T034928Z&X-Amz-Expires=3600&X-Amz-SignedHeaders=host&X-Amz-Signature=cac04af6df4442135815079b6dcb327a0a576940b8dd798bdd79c860c3d57d6f)

48. Tomás-Barberán F. Los polifenoles de los alimentos y la salud. Alim. Nutri. Salud[internet]. 2003[citado el 24 de nov 2019]; 10(2):41-53. Disponible en: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/18042/3/lecturaPDF.pdf>
49. García E, Segovia I, Fuentes A. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Valencia. Universidad Politécnica de valencia. Departamento de tecnología de alimentos. 2015 Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>
50. Roginsky V y Lissi E.A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. Food Chem [internet]. 2005 [citado en 24 de nov 2019]; 92 (2): 235-254. Disponible en: <https://sci-hub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814604005904>
51. Vidal A., Silva de Andrade-Wartha ER, De Oliveira e Silva AM, Pavan R, Lima AD, Fallarero A, Batista AE, Mancini-Filho J. Actividad antioxidante y polifenoles de las algas marinas halimeda opuntia y halimeda monile. Ars Pharmaceutica [Internet], 2009 [citado el 24 de nov 2019]; 50(1), 24-31. Disponible en: <https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/27474/Ars%20Pharm%202009%3B50%281%2924-31.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
52. García E, Segovia I, Fuentes A. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Valencia. Universidad Politécnica de valencia. Departamento de tecnología de alimentos. 2015 Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>

53. Abuashwashi M. Estudio analítico y de la actividad antioxidante de "Rosmarinus officinalis" L. de la Península Ibérica. [Tesis doctoral en internet]. España. Universidad Complutense de Madrid; 2018. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/46635/1/T39629.pdf>
54. Ojeda, K. Estudio fitoquímico y actividad biológica de plantas utilizadas en medicina mapuche [Tesis en internet]. [Valdivia]: Universidad Austral de Chile, 2013. Recuperado a partir de: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2013/fco.39e/doc/fco.39e.pdf>
55. Ibrahim T. Chemical composition and biological activity of extracts from *Salvia bicolor* Desf. growing in Egypt. *Molecules*[internet]. 2012 [citado el 25 de nov 2019]: 17 (10). 11315-11334. disponible en: <https://sci-hub.tw/https://www.mdpi.com/1420-3049/17/10/11315>
56. Muñoz M, Gutiérrez D. determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol *Nicotiana glauca* [internet]. Ciudad de México: Universidad Autónoma de Querétaro; 2009 [citado el 25 de nov 2019]. Disponible en: <https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2008/7VeranoUAQ/14MunozJuarez.pdf>
57. Vásquez A, Cala Miranda I, Tafurt Martínez J, Stashenko E. Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de *Salvia aratocnesis*, *Salvia sochensis*, *Bidens reptans* y *Montanoa ovalifolia*. *Scientia et Technica* [internet]. 2007 [citado el 25 nov 2019];13(33):2005-207. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/849/84903354.pdf>



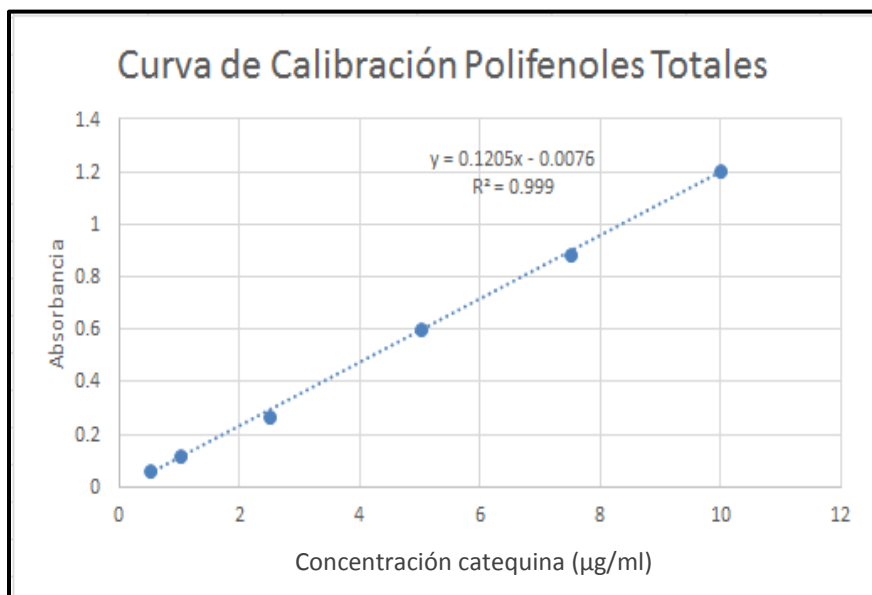
58. Periche A, Martínez-Las Heras R, Heredia A, Espert M, Escriche I, Castelló M, Andrés A. Cinética de extracción de compuestos antioxidantes en infusiones de hoja de estevia. Universidad Politécnica de Valencia [citado el 25 de nov 2019]. Disponible en: <https://previa.uclm.es/area/cta/cesia2012/cd/PDFs/4-BIO/BIO-P14T.pdf>
59. Beltrán Y, Morris H J, de la Cruz Enrique, Quevedo Y, Bermúdez. Contenido de fenoles totales en extractos de *Pleurotus* obtenidos con solventes de diferente polaridad. *Rev Cubana Invest Bioméd* [Internet]. 2013 Jun [citado 26 nov 2019]; 32( 2 ): 121-129. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002013000200001&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002013000200001&lng=es).
60. Gracia M. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universidad Autónoma de Querétaro. *Rev Acad*[internet]. 2009 [citado el 26 de nov 2019]; 1: 1-4.disponible en: [https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias2007/56\\_1UAQGarciaNava.pdf](https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias2007/56_1UAQGarciaNava.pdf)
61. Zengin G, Llorent-Martínez E J, Fernández-de Córdova M L, Bahadori M B, Mocan A., Locatelli M. et al. Chemical composition and biological activities of extracts from three *Salvia* species: *S. blepharochlaena*, *S. euphratica* var. *leiocalycina*, and *S. verticillata* subsp. *amasiaca*. *ind crop prod* [internet]. 2018 [citado el 25 nov 2019]; 111: 11-21.disponible en: <https://sci-hub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669017306738>

62. Paredes-Ruiz F, Serrano-Maldonado M, González-Palma I, Soriano-Santos J. Determinación de la capacidad antioxidante y la cuantificación de compuestos fenólicos obtenidos por dos métodos de extracción acuosa del muérdago (Cladocolea loniceroides). Universidad Autónoma Metropolitana. México [citado el 25 de nov 2019] 2015.disponible en:  
<https://smbb.mx/congresos%20smbb/guadalajara15/PDF/XVI/trabajos/II/IIC-38.pdf>
63. Cañigüeral S. Contribución al estudio de los polifenoles de especies del género salvia L.Universidad de Barcelona. [citado 26 de nov 2019]. Disponible en:  
<http://hdl.handle.net/2445/34827>

## ANEXOS

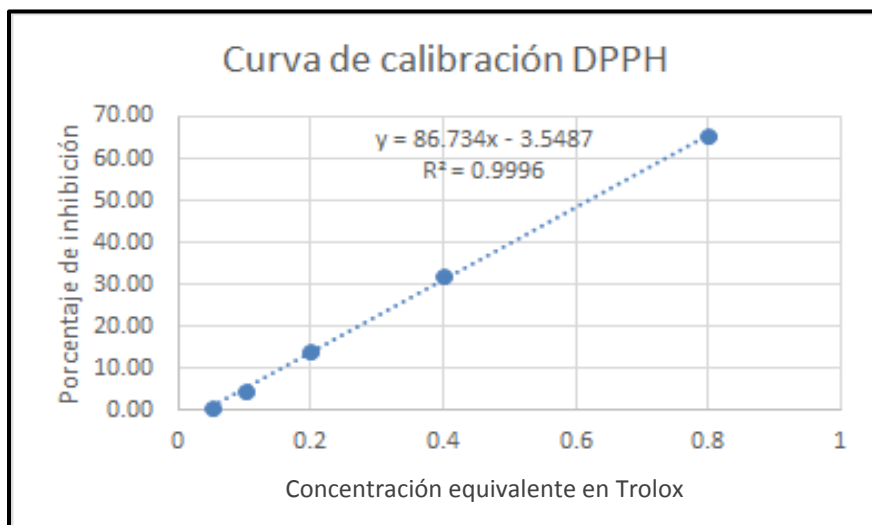
### Anexo 1

**Grafico 1: curva de calibración de la determinación de polifenoles totales**



**Fuente:** datos de la investigación.

**Grafico 2: Curva de calibración DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo)**



**Fuente:** datos de la investigación

## Anexo 2

### Ejemplo de cálculo de concentración de compuestos fenólicos

Extracto de hoja de *Salvia splendens*

Dato de extracto metanólico

- Absorbancia a 700 nm: 0.144
- Volumen de extracto de *S. splendens* empleado: 200  $\mu\text{L}$
- Volumen total del matraz aforado: 10 ml

1.- De la ecuación de la recta de catequina se despeja “X” y se coloca el valor de la absorbancia en el término “Y”

(a)  $y = 0.1205x - 0.0076$

(b)  $x = (y + 0.0076) / 0.1205$

(c)  $x = \frac{0.144 + 0.0076}{0.1205} = \frac{0.1516}{0.1205} = 1.25801 \text{ ppm } (\mu\text{g/ml}) = \text{Concentración 1}(C_1)$

2.- Se calcula  $C_2$  de la relación siguiente:

(d)  $C_1 V_1 = C_2 V_2$

Donde:

- $C_1 = X =$  concentración de compuestos fenólicos en el volumen total del matraz aforado (1.25801  $\mu\text{g/ml}$ )
- $V_1 =$  volumen del matraz aforado (10 ml)

- $V_2$  = volumen de extracto de hoja de *S. splendens* (200  $\mu\text{L}$ )
- $C_2$  = concentración de compuestos fenólicos en el volumen de extracto de hoja de *S. splendens*

$$(e) \quad C_2 = \frac{C_1 V_1}{V_2} = \frac{1.2581 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} * 10\text{ml}}{200 \mu\text{L}}$$

$$C_2 = 0.0629 \mu\text{g de catequina} / \mu\text{L de extracto}$$

3.- Para expresar el resultado en mg equivalente de catequina por gramo de muestra de *S. splendens* se usa la siguiente relación:

$$(f) \quad \frac{0.0629 \mu\text{g de catequina}}{1 \mu\text{L de extracto de hoja } S. splendens} \times \frac{50000 \mu\text{L extracto de hoja } S. splendens}{0.2552 \text{ g de muestra hoja } S. splendens}$$

$$= 12323.66 \mu\text{g de catequina} / \text{g de hoja } S. splendens$$

Para obtener mg / g, se debe transformar  $\mu\text{g}$  a mg de catequina

$$= \frac{12323.66 \mu\text{g}}{\text{g}} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \mu\text{g}} = 12.32 \text{ mg catequina} / \text{g muestra de hoja de } S. splendens$$

**Anexo 3**

**Ejemplares de *salvia splendens* (fuente propia)**



## Anexo 4

### Muestras de analito en el agitador magnético, parte del proceso de extracción

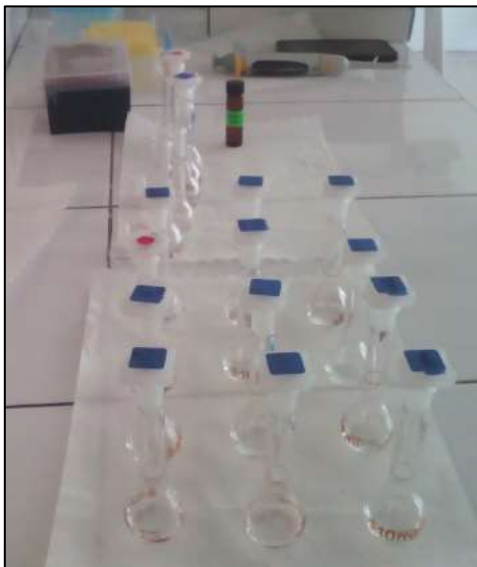


### Conservación de las muestras de analito luego de la extracción



## Anexo 5

### PROCEDIMIENTO DE FOLIN-CIOCALTEAU



**Fiolas con muestras de analito**



**Adición del reactivo de Folin-Ciocalteu**



**Identificación de polifenoles por reactivo de Folin Ciocalteu**



## Anexo 6

### Certificación Botánica

 	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS</b> <small>Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA</small> <b>VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO</b>	
<b>MUSEO DE HISTORIA NATURAL</b>		
<p><i>"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"</i></p>		
<b>CONSTANCIA N° 078-USM-2019</b>		
<p>EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:</p>		
<p>La muestra vegetal (planta completa) recibida de <b>Carlos Erik Purizaca Mejía</b>, estudiante de la Universidad Católica Los Angeles de Chimbote; ha sido estudiada y clasificada como: <b><i>Salvia splendens</i> Sellow ex Wied-Neuw.</b> y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).</p>		
<p><b>DIVISION: MAGNOLIOPHYTA</b></p>		
<p><b>CLASE: MAGNOLIOPSIDA</b></p>		
<p><b>SUBCLASE: ASTERIDAE</b></p>		
<p><b>ORDEN: LAMIALES</b></p>		
<p><b>FAMILIA: LAMIACEAE</b></p>		
<p><b>GENERO: <i>Salvia</i></b></p>		
<p><b>ESPECIE: <i>Salvia splendens</i> Sellow ex Wied-Neuw.</b></p>		
<p>Nombre vulgar: "Salvia roja" Determinado por Mag. Asunción A. Cano Echevarría</p>		
<p>Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.</p>		
<p>Lima, 28 de marzo de 2019</p>		
  <b>Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA</b> JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)		
<p>ACE/ddb</p>		