



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES
EN HOJA DE *Phyllanthus niruri***

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

AUTOR:

Br. María Marcelina Isla Ramos

ASESOR:

Mgtr. Q.F. LIZ ZEVALLOS ESCOBAR

CHIMBOTE – PERÚ

2016

TÍTULO

**CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES
EN HOJA DE *Phyllanthus niruri*.**

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Mgtr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Teodoro Walter Ramírez Romero

Secretario

Mgtr. Matilde Anais Matos Inga

Miembro

Mgr. Q.F Liz Elva Zevallos Escobar

ASESOR

AGRADECIMIENTO

El más sincero agradecimiento a nuestra casa de estudios y a toda su plana docente que con su capacidad y buena voluntad contribuyeron a mi formación profesional.

El agradecimiento especial a mí asesor Mgtr. Q.F Liz Elva Zevallos Escobar por su ayuda y por su valiosa colaboración en la elaboración de este proyecto.

A los miembros del jurado ya que gracias a la rigurosidad de sus revisiones se consiguió que este proyecto esté perfectamente bien elaborado.

Finalmente agradecer al Q.F Moises Abraham Sacramento Milla por el apoyo brindado.

DEDICATORIA

Al único ser capaz de guiarnos e iluminarnos llenos de fe y esperanza, quien ha estado conmigo a cada paso que doy cuidándome y dándome fortaleza para continuar, Dios.

A mi esposo, compañero inseparable de cada jornada, a mí adorada Alondra quienes fueron motivo para seguir avanzando en este camino de esfuerzos.

A mis padres, María y Vitelio ejemplos de superación y lucha por lograr metas trazadas.

A mis hermanos Vitelio, Rogelio y Cinthia, a mis tíos Iris y Jaime, y a mis queridas primas Malú y Leyla por su apoyo incondicional, por lo cual estaré inmensamente agradecida por la ayuda a la realización de unos de mis sueños, el de ser un profesional.

RESUMEN.

Los compuestos fenólicos presentan una amplia ubicuidad en la naturaleza, son responsables del buen funcionamiento de las plantas y su relación con el hombre, para su extracción se utilizan solventes polares cuyo extracto posteriormente se concentra. El presente estudio evaluó el contenido de compuestos fenólicos en la hoja de *Phyllanthus niruri*, determinada por espectrofotometría usando el método Folin-Ciocalteu y utilizando ácido gálico como referencia. Los resultados muestran que la cantidad encontrada fue de $9,78 \pm 0,12$ mg de ácido gálico/g de hoja seca. La especie *Phyllanthus niruri* presenta un alto contenido de polifenoles totales.

Palabras clave: polifenoles, Folin-Ciocalteu, *Phyllanthus niruri*

ABSTRACT

Phenolic compounds have a wide ubiquity in nature, are responsible for the proper functioning of the plants and their relationship with man, for removal polar solvents are used which subsequently concentrated extract . This study evaluated the content of phenolic compounds in the sheet *Phyllanthus niruri* , determined by spectrophotometry using the Folin Ciocalteu method and using gallic acid as reference. The results show that the content found was 9.78 ± 0.12 mg gallic /g dry leaf *Phyllanthus niruri* species has a high content of total polyphenols.

Keywords: polyphenols, Folin - Ciocalteu , *Phyllanthus niruri*

ÍNDICE

	Pág.
AGRADECIMIENTO	iv
DEDICATORIA	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCIÓN	01
II. REVISIÓN DE LITERATURA	05
2.1 Antecedentes	05
2.1. Bases teóricas	06
III. METODOLOGÍA	11
3.1 Tipo y diseño de investigación	11
3.2 Población y muestra	11
3.3 Definición y operacionalización de variables	12
3.4 Técnicas e instrumentos	12
3.5 Plan de análisis	13
3.6. Consideraciones éticas	14
IV. RESULTADOS	15
4.1 Resultados	15
4.2 Análisis de resultados	17
V. CONCLUSIONES	19
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
ANEXOS	24

INDICE DE GRÁFICOS Y TABLAS

GRÁFICO 1: Curva de calibración de polifenoles totales utilizando ácido gálico como estándar a 700 nm 15

TABLA 1: Contenido de polifenoles totales en el extracto de la hoja de *Phyllanthus niruri* 16

INTRODUCCIÓN:

El reino vegetal representa un enorme potencial de moléculas para ser descubiertas, ya que se estima que más del 90% de las especies vegetales no han sido aún estudiadas. En el Perú, donde somos privilegiados con las condiciones climáticas, contamos con especies vegetales muy variadas, entre esta gamma de variedades tenemos plantas con propiedades medicinales las cuales no se han difundido debido al escaso conocimiento científico que se tiene de ellas. ^(1,2)

El uso de las plantas con fines terapéuticos es de gran utilidad, ya que de ellas son obtenidas innumerables sustancias químicas. La investigación, en este sentido, brinda la oportunidad de encontrar nuevos principios activos desde el punto de vista farmacológico, a partir de una materia prima más económica y natural. ^(3,4)

Un punto muy importante en la investigación de plantas medicinales, es la búsqueda de ensayos capaces de guiar al investigador en la purificación y el fraccionamiento del extracto vegetal en estudio, por lo que se prefiere usar sistemas *in vitro* para analizar los componentes químicos o denominados fitoconstituyentes de los extractos vegetales, a quienes se les atribuye la actividad terapéutica, ya que los resultados de las pruebas, se obtienen en forma más rápida y económica que las pruebas *in vivo*. Además, estas pruebas siempre deben ser previas a la investigación preclínica y clínica. ⁽⁵⁾

Los compuestos fenólicos son un grupo muy común de metabolitos

secundarios presentes en las plantas, estos incluyen a los fenoles simples, polifenoles, flavonoides, taninos, entre otros. Los flavonoides son el mayor grupo de fenoles vegetales y los más estudiados. Los compuestos fenólicos son un gran grupo de antioxidantes naturales ^(6,7)

Los polifenoles son moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas; se encuentran en muchas plantas, algunas de uso común y por sus propiedades antioxidantes merecen mayor atención. ⁽⁶⁾

Actualmente el, interés en los compuestos fenólicos ha aumentado debido a la evidencia con respecto al papel importante de estos compuestos con actividad antioxidante en la salud humana. Específicamente se han encontrado varios efectos preventivos en diferentes enfermedades como la prevención de cáncer, las enfermedades coronarias del corazón, los desórdenes inflamatorios, la degeneración neurológica, envejecimiento, etc⁽⁸⁾.

Los polifenoles, al exhibir una gama de cualidades beneficiosas para la salud, pueden incluirse entre los productos de origen natural con aplicaciones valiosas en la medicina tradicional. ⁽⁶⁾

La *Pyllanthus niruri*, es una planta conocida con el nombre vulgar de chanca

pedra en el Perú, tiene múltiples usos en la medicina tradicional, es conocida por ser utilizada como antiinflamatorio y en las afecciones renales de cálculos a los riñones por su propiedad diurética, es debido a esta última propiedad es que se le da el nombre común de "chanca piedra" o "quebra piedra"; al contrario de lo que el nombre popular sugiere, el té de *Phyllanthus niruri*, no funciona exactamente disolviendo o quebrando los cálculos en el sistema urinario, específicamente, las sustancias contenidas en la hierba evitan la formación de los cálculos y actúan como un relajante del sistema urinario, lo cual ayuda a expulsar las piedras, lo que fue comprobado por estudios realizados en la Universidad Federal de São Paulo⁽⁵⁾

Existen estudios relacionado al efecto hipoglicemiante y antiviral de *phyllanthus niruri*.^(9,10)

Este interés ha hecho necesario el desarrollo de nuevos procedimientos analíticos capaz de manejar matrices más complejos en que estos compuestos se descubren, teniendo como base la información procedente de la bibliografía etnobotánica, pretendemos tentar la posibilidad de que esta especie vegetal pueda ser utilizada de forma racional como alternativa terapéutica segura y con mínimos efectos adversos en el tratamiento de enfermedades; así mismo contribuir con datos e información para futuras investigaciones, así mismo, mediante estudios que brinden a la población un mayor rango de seguridad para su empleo tradicional ya que pueden tener una función similar a los antioxidantes endógenos producidas por el organismo, lo que sugiere que al consumirlos se puede prevenir enfermedades asociadas al estrés oxidativo.

El estudio plantea como problema de investigación: ¿Qué cantidad de polifenoles totales contiene la hoja de *Phyllanthus niruri*?

El estudio está orientado específicamente:

Objetivo general

Determinar el contenido de polifenoles totales en las hoja de *Phyllanthus niruri*

Objetivo específico:

1. Establecer la curva de calibración (o estándar) del ácido gálico (AG) como patrón de los polifenoles
2. Determinar la cantidad de polifenoles en las hojas de *Phyllanthus niruri* expresados en mg de ácido gálico (AG)/ g de hoja seca

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes

Estudios realizados en siete plantas medicinales utilizadas empíricamente por su acción hipoglicemiante demuestran presencia de metabolitos secundarios y del elemento cromo, por medio de una marcha fitoquímica y un método cualitativo y otro cuantitativo por Espectroscopia de Absorción Atómica para la determinación del cromo, trivalente. Entre las especies estudiadas se encuentra *Phyllanthus niruri* L. (Chancapiedra), fitoquímicamente se determinó la presencia metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, y glicósidos, a través de reactivos de coloración y. ^(11, 12).

Otro estudio realizado para evaluar actividad antiviral *in vitro* de cuatro extractos de las especies *Caryo dendron orinocense* y *Phyllanthus niruri* de la familia Euphorbiaceae contra los virus herpes bovino tipo 1 y herpes simplex tipo 2, en su estudio cualitativo las especies estudiadas muestran una composición química determinada principalmente por aminoácidos, compuestos fenólicos, taninos y triterpenoides, metabolitos que podrían estar involucrados en su actividad antiviral ⁽¹³⁾.

2.2 Bases teóricas

COMPUESTOS FENÓLICOS EN LAS PLANTAS (ESTRUCTURAS)

En la naturaleza existe una amplia variedad de compuestos que presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos. Estos compuestos podemos denominarlos polifenoles. Se originan principalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad, como producto de su metabolismo secundario. Algunos son indispensables para las funciones fisiológicas vegetales. Otros participan en funciones de defensa ante situaciones de estrés y estímulos diversos. Existen varias clases y subclases de polifenoles que se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos. Los principales grupos de polifenoles son: ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides. ⁽¹³⁾

Los flavonoides, nombre que deriva del latín “flavus”, cuyo significado es “amarillo”, constituyen la subclase de polifenoles más abundante dentro del reino vegetal. Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común difenilpirano (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos fenilo (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano heterocíclico. Todos los flavonoides son estructuras hidroxiladas en sus anillos aromáticos, y son por lo tanto estructuras polifenolicas. Los principales subgrupos de compuestos flavonoides son: flavonoles, flavonas, flavanonas (dihidroflavonas), isoflavonas, antocianidinas y flavanoles. ⁽¹⁴⁾

Algunos polifenoles son específicos de determinados alimentos (flavononas en cítricos, isoflavonas en soja). Otros, como la quercetina, se pueden encontrar en un gran número de plantas (frutas, vegetales, cereales, leguminosas, te, vino, etc.). Generalmente, los alimentos contienen una mezcla compleja de polifenoles. Además, numerosos factores medioambientales como la luz, el grado de madurez o el grado de conservación, pueden afectar al contenido total de polifenoles. El clima (exposición al sol, precipitaciones, etc.) o factores agronómicos (diferentes tipos de cultivos, producción de fruta por el árbol, etc.) juegan un papel fundamental. La exposición a la luz es, en particular, uno de los principales condicionantes para determinar el contenido de la mayoría de los polifenoles. ⁽¹⁵⁾

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS COMPUESTOS FENÓLICO

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. El estrés oxidativo se define comúnmente como el desequilibrio entre las especies oxidantes y reductoras a nivel celular en un organismo. ^(16,17)

En los últimos años ha cobrado especial interés, el estudio de la actividad biológica de los polifenoles y en especial la evaluación de la capacidad antioxidante asociada a ellos. Los polifenoles en vegetales, frutas y té pueden prevenir enfermedades degenerativas, incluyendo cánceres, con la acción

antioxidante. Estos efectos son fundamentalmente consecuencia de sus propiedades antioxidantes que pueden usualmente justificar sus acciones vasodilatadoras y vasoprotectoras, así como sus acciones antitrombóticas, antilipémicas, antiateroscleróticas, antiinflamatorias y antiapoptóticas. Numerosos estudios han avalado estas propiedades biológicas de los polifenoles.⁽¹⁸⁻²²⁾

Los polifenoles poseen acciones molusquicidas, antihelmínticas, antihepatotóxicas, antiinflamatorias, antidiarreicas, antiúlceras, antivirales, antialérgicas y vasodilatadoras. Se ha verificado que inhiben la replicación del virus de la inmunodeficiencia Humana (HIV) y del virus simplex humano (HSV), inhiben las glucosiltransferasas del *Streptococcus mutans* (caries dental), inhiben la autoxidación del ascorbato, también inhiben efectos citotóxicos, la promoción del crecimiento tumoral y la enzima xantinamonoamina oxidasa. La actividad antioxidante de los fenoles es el origen de funciones biológicas tales como la antimutagénica, anticancerígena y antienvjecimiento.⁽²²⁾

Se ha probado, tanto epidemiológica, así como experimentalmente, la relación existente entre una ingesta aumentada de antioxidantes en la dieta, así como de vitaminas C y E, y β -caroteno y la prevención de la enfermedad coronaria. Hertog determinó que la ingesta de flavonoides en la dieta, la mayoría a partir de té, se asoció con una reducción de las muertes por enfermedades coronarias. Los flavonoides de las plantas, específicamente los del té, son poderosos

antioxidantes, comprobados *in vitro* en un sistema de oxidación de lipoproteínas (LDL) simulando lo que ocurre en el cuerpo humano. ⁽²³⁾

Un aumento en la ingesta de antioxidantes fenólicos naturales se correlaciona con una reducción de las enfermedades coronarias. Dietas ricas en compuestos fenólicos se asocian con mayor expectativa de vida. Estas propiedades incluyen actividad anticancerígena, antiviral, antiinflamatoria, efectos sobre la fragilidad capilar; y habilidad para inhibir la agregación de las plaquetas humanas. Estos compuestos pueden moderar la peroxidación de los lípidos involucrados en la aterogénesis, trombosis y carcinogénesis. Sus propiedades conocidas incluyen la captura de radicales libres, fuerte actividad antioxidante, inhibición de las enzimas hidrolíticas y oxidativas (fosfolipasa A2, cicloxigenasa, lipoxigenasa) y acción antiinflamatoria. ⁽²³⁾

CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

Técnica de Folin-Ciocalteu (FC)⁽²³⁾

La determinación de fenoles totales no está directamente relacionada con la medición de actividad antioxidante, pero puede ser útil para tales estudios, en especial si se combinan con métodos para medir actividad antioxidante. Entre los métodos para la medición de fenoles totales se encuentra el de FolinCiocalteu, uno de los métodos más antiguos para determinar el contenido de fenoles totales. Esta prueba consiste en mezclar tungstato y molibdato en un medio altamente básico (Na_2CO_3 al 5-10 %, acuoso). Los polifenoles son

fácilmente oxidables en medio básico quienes reaccionan con el molibdato formando óxido de molibdeno MoO, este compuesto puede ser identificado y cuantificado por espectroscopia de UV/VIS debido a que absorbe a una longitud de 750 nm. Aunque, si bien el método de FC no está relacionado con la medición de actividad antioxidante, parece ser uno de los mejores métodos para estimar esta actividad antioxidante en alimentos, con la excepción de que la muestra no contenga una cantidad de proteínas significativa. En la literatura se pueden encontrar diversos ejemplos de la aplicación del método de FolinCiocalteu con respecto a productos alimenticios como es el caso del vino rojo y blanco, té y jugos.

III. METODOLOGÍA

3.1 Diseño de la investigación

El presente trabajo de investigación corresponde a un estudio de tipo descriptivo, observacional, con un nivel de investigación de enfoque cuantitativo.

3.2 Población y muestra

Población vegetal: Conjunto de hojas de *Phyllanthus niruri*, se obtuvieron de una zona de Bambamarca, provincia de Hualgayoc ubicado en el Departamento de Cajamarca.

Muestra vegetal: Se emplearon aproximadamente 1Kg de las hojas de *Phyllanthu sniruri*, luego las hojas serán secadas a 60°C por 24 horas cada una en la estufa luego serán licuadas y se obtendrá un polvillo de aproximadamente 100g que será utilizado para el extracto hidroalcohólico.

Criterios de inclusión.

- Hoja en buen estado vegetativo de *Phyllanthus niruri*.

3.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
Cantidad de polifenoles de hoja de <i>Phyllanthus niruri</i>	Cantidad de Polifenoles totales expresados en mg. x gr. de muestra	La cantidad de polifenoles se determinó mediante el método de Folin Ciocalteu y a través del espectrofotométrico.	mg de ácido gálico/g de hoja seca.

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Obtención del extracto hidroalcohólico

El estudio se realizó con la hoja de la planta, en óptimo estado de desarrollo vegetativo y fitosanitario. Éstas fueron secadas a 60°C en estufa por 24 horas y pulverizadas en un molino hasta obtener partículas finas.

Se pesó aproximadamente 100 g de polvillo, el extracto fue obtenido por maceración con etanol durante 15 días, luego se filtró con papel filtro rápido y con bomba al vacío, se concentró en un rotavapor a 50°C a 3,5 rpm y se almacenó a 4 °C hasta su utilización.

Dado que los compuestos fenólicos son de naturaleza polar, para la muestra se utilizó metanol para extraerlos, se pesó en una balanza analítica aproximadamente 1 g del extracto seco diluido en 10 mL de metanol, se tomó una alícuota de 12.5µL de la solución como muestra.

Determinación de polifenoles totales

En una fiola de 10 mL agregar 2.5 mL de agua desionizada, agregar las muestras o estándar para la curva de calibración. Luego adicionar 500 μ L de reactivo de folin y dejar en oscuridad por 5 minutos. Después agregar 2 mL de carbonato de sodio al 10%, seguidamente aforar con agua desionizada y dejar en oscuridad por 90 minutos. Realizar la lectura a $\lambda=700$ nm.

Para cada una de las muestras, luego de hacer la prueba de la concentración para estar dentro de la curva de calibración, como estándar de referencia se utilizó ácido gálico. Los estándares se prepararon a concentraciones de 0,5; 1; 2,5; 5; 10 ppm.(mg/L)

El contenido de fenoles totales fue expresado en mg de ácido gálico (AG)/ g de material seco. Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

3.5 Plan de análisis de datos

El análisis descriptivo se presenta a través de tablas y gráficos. La tabla indica el contenido promedio de polifenoles expresados mg AG/ g muestra y su desviación estándar. El gráfico muestra la curva de calibración del estándar.

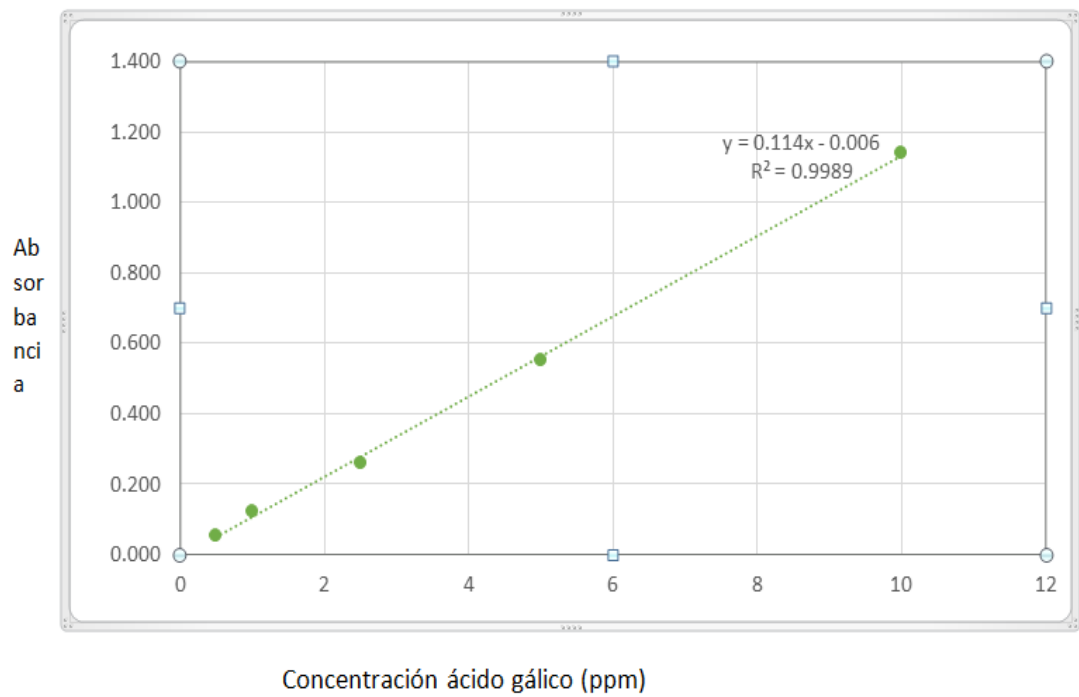
3.6. Consideraciones éticas

Se promueve la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso del *Phyllanthus niruri*, no solo para preservar su legado cultural, sino también para registrar información relevante y demostrar científicamente sus efectos terapéuticos que servirán como nuevas fuentes de medicamentos y otros beneficios para la humanidad. La finalidad es contribuir con la protección de la biodiversidad, puesto que es un bien común.

IV. RESULTADOS

4.1 Resultados

Gráfico 1: Curva de calibración de polifenoles totales utilizando ácido gálico como estándar.



Fuente: Datos propios de la investigación

Tabla 1

Contenido de polifenoles totales expresados en acido gálico por gramo de hojas de *Phyllanthus niruri*

Chanca piedra (<i>Phyllanthus niruri</i>)	mg ácido gálico/g de hoja seca
M1	19,33
M2	19,55
M3	19,81
Promedio	19,56
Desviación estándar	± 0,240

M= muestra

Fuente: Datos de la investigación

4.2 Análisis de resultados:

La determinación de fenoles totales es un estudio ampliamente utilizado que permite conocer el contenido de polifenoles presentes, en esta investigación se realizó a través del método de Folin-Ciocalteu. Este método es mundialmente utilizado para la determinación de compuestos polifenólicos en extractos vegetales y tiene muchas variaciones. Aun así los reactivos utilizados son idénticos en todos los casos, variando únicamente las cantidades usadas y el tiempo esperado para realizar las mediciones espectrofotométricas de las muestras. La sencillez de este método asegura su reproducibilidad, volviéndolo un método altamente fiable ⁽²⁴⁾

Este método se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes, ya que el reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula. ⁽²⁵⁾

La curva de calibración para el presente estudio se presenta en el gráfico 1, tiene un coeficiente de relación 0.99 mg ácido gálico/g de hoja seca, según

“absorbancia versus concentración” de ácido gálico, que muestra linealidad en la curva de calibración.

En lo que respecta a la presencia de compuesto fenólicos, los resultados en la tabla 1 muestran que las hojas contiene $9,78 \pm 0,12$ mg / g hoja seca, lo que se considera como cantidad significativa de polifenoles totales.

Si bien no existe una categoría alguna que permita establecer si los contenidos de fenoles totales en frutas y vegetales son altos o bajos, si existen algunas referencias en la literatura respecto a un contenido aceptable de fenoles. Por ejemplo valores finales de 60 mg Eq a ácido gálico (AG) /g de muestra son considerados “moderado contenido” de fenoles cuando se usa el reactivo de Folin-Ciocalteu para medir reducción de la capacidad antioxidante.⁽²⁵⁾

V. CONCLUSIONES

1. La hoja de *Phyllanthus niruri* analizado posee un contenido de polifenoles totales poco significativos.
2. La curva de calibración en relación al ácido gálico presenta un coeficiente de relación de 0.99 mg ácido gálico/g de hoja seca.
3. La hojas de *Phyllanthus niruri* contiene $9,78 \pm 0,12$ mg / g hoja seca.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. OMS. Pautas generales para las metodologías de investigación y evaluación de la Medicina Tradicional. Accesible en: <http://www.who.int/medicines/library/trm/whoedm-trm-2000-1/who-edm-trm-2000-pdf>. Consultado en enero 2016.
2. *Germplasm Resources Information Network*. United States Department of Agriculture. 20 de abril de 2006. Consultado el 29 de noviembre de 2010.
3. . Martínez-Valverde I., Periago M.J., Ros G. **2000**. Significado nutricional de Los compuestos fenólicos de la dieta. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 50, 5-18.
4. Guimet R. Evaluación de la actividad Antioxidante y Determinación de polifenoles totales in vitro, de las hojas de ocho morfotipos de Bixa Orellana L. [Tesis]. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Perú 2012. Disponible en: <http://dspace.unapiquitos.edu.pe/bitstream/unapiquitos/122/1/EVALUACION%20DE%20LA%20ACTIVIDAD%20ANTIOXIDANTE%20Y%20DETERMINACION%20DE%20POLIFENOLES%20TOTALES%20IN%20VITRO%20DE%20LAS%20HO.pdf>
5. Castañeda C, Ramos E. e Ibáñez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas *Revista Horizonte Médico* 2008; 8(1): 56-72. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rev_academia/2008_n1/pdf/a11v15n1.pdf

6. Maureen A. y Prieto E. Plantas que contienen polifenoles. Antioxidantes dentro del estilo de vida. Rev Cubana InvestBiomed 1999; 18(1):12-4.
Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol18_1_99/ibi04199.pdf
7. Gutiérrez A. Vino, polifenoles y protección a la salud. Revista Cubana AlimentNutr 2002; 16(2):134-41. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol16_2_02/ali07202.pdf
8. Bueno, E. 2009. Efecto del extracto acuoso de la planta *Phyllanthusniruri*, sobre la peroxidación lipídica, catalasa y potencial antioxidante en el tejido renal de ratas diabéticas. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis. Universidad de Oriente. Cumaná.
9. Álvarez, Á. y Del Barrio, G. 2008. Propiedades antivirales de plantas del género *Phyllanthus*. Revista Cubana de Farmacia, 42(1): 1-10.
10. González F. Caracterización de compuestos fenólicos presentes en la semilla y aceite de chía (*salvia hispanica l.*), mediante electroforesis capilar. [Tesis magistral] Instituto Politécnico Nacional México, D. F. Diciembre 2010. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/9536/36.pdf?sequence=1>
11. Quiñones, M. y Aleixandre A. Actividad biológica de los compuestos fenólico (efectos en la salud). NutrHosp. 2012; 27(1):76-89 . ISSN 0212-1611 • CODEN NUH0EQ S.V.R. 318

12. Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 727-747.
13. Van der Sluis AA, Dekker M, de Jager A, Jongen WM. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *J Agric Food Chem* 2010; 49: 3606-3613.
14. Scalbert, C. Manach, C. Morand, Dietary polyphenols and the prevention of diseases, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 45, 2005, 297-306
15. F.S. Martínez, G.J. González, J.M. Culebras, M.J. Tuñón, Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes, *Nutrición Hospitalaria*, Vol. 17 No.6, 2002, 271-278.
16. Schroeter H, Heiss C, Balzer J, Kleinbongard P, Keen CL, Hollenberg NK, Sies H, Kwik-Urbe C, Schmitz HH, Kelm M. (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 1024-1029.
17. Perez-Vizcaino F, Duarte J, Jimenez R, Santos-Buelga C, Osuna A. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. *Pharmacol Rep* 2009; 61: 67-75.
18. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 1998; 56: 317-333.
19. Potenza MA, Marasciulo FL, Tarquinio M, Tiravanti E, Colantuono G, Federici A, Kim JA, Quon MJ, Montagnani M. EGCG, a green tea polyphenol, improves endothelial function and insulin sensitivity, reduces

- blood pressure, and protects against myocardial I/R injury in SHR. *Am J PhysiolEndocrinolMetab* 2007; 292: E1378-E1387.
20. Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 673-751.
21. DAVIES K (1995). «Oxidative stress: the paradox of aerobic life». *BiochemSocSymp.* 1995. N° 61. pp. 1–31. PMID 8660387.
22. Kähkönen m., Heinonen M. Berry fenolics and their Antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 2001. Vol. 49, 4076 – 4082.
23. Roginsky V., LissiE.A.. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chem.* 2005, 92, 235-254
24. Ojeda K. Estudio fitoquímico y actividad biológica de plantas utilizadas en medicina mapuche. [Tesis]. Universidad Austral de Chile. 2013. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2013/fco.39e/doc/fco.39e.pdf>
25. Gutierrez D, Ortiz C, y Mendoza A. Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. Simposio de Metrología 2008. México. Disponible en: https://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf

ANEXOS



