

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**DETERMINACIÓN DE LOS FITOCONSTITUYENTES
CUANTIFICACION DE POLIFENOLES Y ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE DE LA *Dalea strobilacea* Barnedy
(HIERBAICHIL)**

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

AUTOR:

RUIZ IZQUIERDO, WALTER

ORCID: 0000-0002-2526-3005

ASESOR:

MGTR. LIZ ELVA ZEVALLOS ESCOBAR

ORCID: 0000-0003-2547-9831

CHIMBOTE - PERÚ

2019

TITULO:

**DETERMINACIÓN DE LOS FITOCONSTITUYENTES,
CUANTIFICACION DE POLIFENOLES Y ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE DE LA *Dalea strobilacea* Barnedy (HIERBAICHIL)**

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

RUIZ IZQUIERDO, WALTER

ORCID: 0000-0002-2526-3005

Universidad los ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Chimbote, Perú

ASESOR

Mgtr. Q.F Liz Elva Zevallos Escobar

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

DIAZ ORTEGA, JORGE LUIS

ORCID: 0000-0002-6154-8913

RAMIREZ ROMERO, TEODORO WALTER

ORCID: 0000-0002-2809-709X

VASQUEZ CORALES, EDISON

ORCID: 0000-0001-9059-6394

JURADO EVALUADOR Y ASESOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Teodoro Walter Ramírez Romero

Miembro

Mgtr. Édison Vásquez Corales

Miembro

Mgtr. Liz Elva Zevallos Escobar

Asesor

AGRADECIMIENTO

En primer lugar mi agradecimiento va a Dios por darme la fuerza y la salud completa para realizar este trabajo

Agradezco a mis padres, a mis hermanas y hermano, de quienes tengo el apoyo incondicional ellos son la base fundamental de todos mis objetivos alcanzados hasta hoy.

Quiero agradecer a la ULADECH Católica por formarme como profesional en el campo de la salud, y el especial agradecimiento a la Escuela de Farmacia y Bioquímica, la cual me abrió las puertas del aprendizaje humanístico y científico.

Agradecer por el apoyo al Dr. Édison Vázquez corales, Dra. Mili Ormeño, Dr. Moisés Abrahán sacramento Milla. Sin olvidar un agradecimiento profundo a mi directora y asesor de tesis Dra. Mgtr. QF. Liz Elva Zevallos Escobar.

DEDICATORIA

A mis padres:

El presente trabajo de investigación está dedicado primeramente Dios, a mis queridos padres Jesús y Juana, por traerme a la vida, me han inculcado el respeto y el compromiso para ser alguien en la vida, me brindaron todo toda la fortaleza para poder cumplir las metas que me he propuesto.

A mis hermanos (as)

A mis hermanas Teresa, Lidia, María, y Elizabeth, a mis hermano Carlos y en especial a Julián, quien es también mi amigo incondicional, ya que ellos me han dado el ejemplo de superación día a día y siempre han estado apoyándome en todo aunque a la distancia.

A mi asesor

A la Dra. Liz Elva Zevallos Escobar, porque desde el primer día que fue mi maestra hasta hoy sigue compartido sus conocimientos científicos.

RESUMEN

Las plantas presentan propiedades selectivas como es la actividad antioxidante, que en el ser humano sirven como efecto protector frente a sustancias altamente reactivas que son resultado del proceso metabólico, en el organismo previene o inhibe el daño oxidativo. El objetivo del presente estudio fue determinar los fitoconstituyentes, polifenoles y capacidad antioxidante de *Dalea strobilacea* Barnedy (hierbaichil). De acuerdo a la metodología se realizó una marcha fitoquímica el extracto se dividió en diferentes fracciones, mediante reacciones e indicadores se logró identificar los metabolitos secundarios. Mediante espectrofotometría usando la técnica de Folin-Ciocalteu y utilizando catequinas se determinó el contenido de polifenoles totales en extracto metanólico, acuoso en infusión y en decocción. La actividad antioxidante se evaluó con el reactivo de (DPPH) y como referencia Trolox. Resultados: Entre los metabolitos secundarios resaltan tanino, flavonoides, esteroides, alcaloides, leucoantocianidinas. El contenido de polifenoles se encontró en el Extracto metanólico de hojas 77.97 ± 0.90 (mg de cat.eq./g de muestra seca), disminuye la concentración en flores con 75.83 ± 1.53 y tallos con 49.58 ± 2.76 . Frente al extracto acuoso en infusión que demuestra un 63.29 ± 2.65 en flores y decocción en 67.44 ± 0.77 de Polifenoles totales (mg de cat. eq./g de muestra seca). En cuanto a la actividad antioxidante se encontró en el extracto metanólico 932.40 ± 71.89 mm Trolox Eq./1 g muestra seca, mientras tanto en infusión un 226.27 ± 7.53 y decocción un 190.40 ± 2.29 . Se concluye que la muestra de *Dalea strobilacea* Barnedy presenta polifenoles totales y capacidad antioxidante

Palabras clave: Antioxidante. *Dalea strobilacea* Barnedy, hierbaichil, polifenoles.

SUMMARY

The Plants have selective properties such as the antioxidant effect, which in humans serve as a protective effect against highly reactive substances that are the result of the metabolic process, in the body prevents or inhibits oxidative damage. The objective of this study was to determine the phytoconstituents, polyphenols and antioxidant capacity of *Dalea strobilacea* Barnedy (hierbaichil). According to the methodology a phytochemical march was carried out the extract of divided into different fractions, through reactions and indicators it was possible to identify the secondary metabolites. Using spectrophotometry using the Folin-Ciocalteu technique and using catechins, the total polyphenol content was determined in methanolic extract, in infusion aqueous and decoction. The antioxidant effect was evaluated with the reagent (DPPH) and as a Trolox reference. Results: Secondary metabolites include tannin, flavonoids, steroids, alkaloids, leucoantocianidins. The polyphenols content was found in the Methanolic Extract of leaves 77.97 0.90 (mg of cat.eq./g of dry sample), decreases the concentration in flowers with 75.83 1.53 and stalks with 49.58 2.76. Facing the aqueous extract in infusion showing a 63.29 2.65 in flowers and decoction in 67.44 0.77 of total polyphenols (mg of cat. eq./g of dry sample). As for the antioxidant activity was found in the methanolic extract 932.40 71.89 mm Trolox eq./1 g dry sample, meanwhile in infusion a 226.27 7.53 and decoction a 190.40 2.29. It is concluded that the sample of *Dalea strobilacea* Barnedy. has total polyphenols and antioxidant capacity.

Key words: Antioxidant. *Dalea strobilacea* Barnedy, hierbaichil, polyphenols.

ÍNDICE

Pág.

EQUIPO DE TRABAJO.....	iii
JURADO EVALUADOR DE TESIS	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
INDICE DE TABLAS Y GRAFICOS	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1 Antecedentes.....	5
2.2. Bases teóricas de la investigación.....	7
2. 2.1 los fitoconstituyentes o metabolitos secundarios.....	8
2. 2. 2. Actividad farmacológica de los alcaloides.....	10
2. 2. 3 Compuestos fenólicos. (Flavonoides, cumarinas, y taninos.).....	10
2. 2. 4 Clasificación de los flavonoides.....	11
2. 2. 5. Actividad antioxidante de los flavonoides.....	12
2. 2. 6. Taxonomía.	20
III. HIPOTESIS.....	22
IV. METODOLOGÍA.....	22
4.1 diseño de la investigación.....	22
4. 1. 2 Extracto hidroalcohólicos para metabolitos secundarios.....	22
4.1.3 Obtención del extracto metanólico con metanol al 80%.....	23
4. 1. 4 Determinación de polifenoles totales.....	23
4.1.5 Ensayo de DPPH en extracto metanólico al 80%.....	24
4. 1. 6 Preparación del extracto acuoso en infusión y decocción.....	24

4.1.7. Determinación de polifenoles del extracto en infusión y decocción.....	25
4. 1.8 Ensayo de DPPH en infusión y decocción.....	25
4.1.9 Equipos de laboratorio: Reactivos y reacciones.....	26
4.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	27
4.3 DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES...27	
4.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	28
4.5 PLAN DE ANÁLISIS.....	28
4.6 MATRIZ DE CONSISTENCIA.....	29
4.7 PRINCIPIOS ÉTICAS.....	31
V. RESULTADOS.....	32
5.1 Resultados.....	32
5.2 Análisis de resultados.....	34
VI. CONCLUSIONES.....	36
6.1 Referencias bibliográficas.....	37
6.2 Anexos.....	48

INDICE DE GRÁFICOS, TABLAS Y CUADROS

TABLA 1: resultados de identificación de fitoconstituyentes de *dalea strobilacea* Barnedy.

Hierbaichil.....32

TABLA 2: Contenido de polifenoles totales en el extracto (infusión) de la hoja, flores, tallo de *Dalea strobilacea* Barnedy.....33

TABLA 3: Resultados de la desviación estándar (o estándar) del trolox como estándar de la actividad antioxidante.....33

I. INTRODUCCION:

Desde la antigüedad hasta el día de hoy las plantas han sido y seguirán siendo la fuente principal de alimento y de medicina para el hombre, en la actualidad muchas de las plantas se utiliza tradicionalmente para tratar o prevenir distintas enfermedades. El uso de plantas medicinales es una práctica común alrededor del mundo; de acuerdo con estadísticas de la Organización Mundial de Salud (OMS), 80% de la población de los países en desarrollo recurre a distintos tipos de ellas para satisfacer o complementar sus necesidades médicas. Por lo concerniente en muchos pueblos y lugares del mundo la medicina tradicional continúa con su contribución a la medicina actual mediante usos tradicionales con excelentes resultados, los cuales sirven como fuente de investigación para la industria farmacéutica, cosmética alimentaria y otras áreas interesadas. Gracias a los avances de la ciencia y la tecnología se han hecho estudios y se siguen haciendo con especies nuevas con el objetivo de agrupar las plantas que tengan similares efectos con el fin de conocer el principio activo de cada planta el cual cumple el efecto terapéutico sobre distintas enfermedades. ^(1,2)

En nuestro país es una práctica popular el uso de plantas medicinales que radica desde la época prehispánica, hoy en día se emplea mucho las plantas medicinales mayormente en las zonas rurales y suburbanas de la costa, sierra y la selva del Perú. Los responsables que transmitieron a través del tiempo todo el conocimiento sobre las propiedades de las plantas medicinales fueron los aborígenes, conformando así la base de la medicina y que se mantiene hasta la actualidad, gracias a eso los científicos de hoy en día pueden prescindir de ello. Los profesionales de la salud cada vez se enfocan más en el uso y el tratamiento con plantas medicinales, esto se debe a que en nuestro país existen zonas rurales y urbanas marginales donde hay escaso recurso del servicio de salud donde los costos de los fármacos están

elevados, por lo cual la demanda de del uso de las plantas y la comprobación científica se aumenta. Toda especie que posee efecto curativo se debe a la presencia de determinado fitoconstituyentes que se encuentran en forma compleja y heterogénea ayudando así a que cada planta se pueda utilizar para una o varias enfermedades. ⁽²⁾

Los fitoconstituyentes son compuestos químicos que posee naturalmente cada planta, los científicos afirman que puede haber más de 10.000 fitoconstituyentes diferentes que tienen el potencial de afectar a enfermedades como el cáncer, derrame cerebral o síndrome metabólico. Sin tener el conocimiento específico de sus acciones terapéuticas o mecanismos celulares, los fitoconstituyentes han sido considerados como fármacos. ⁽³⁾

Los principales fitoconstituyentes. Los terpenos, constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (más de 40.000 moléculas diferentes). Se les da uso como aromas y fragancias en alimentación y cosmética, también por su importancia en la agricultura en productos agrícolas. Otros compuestos terpenoides tienen importancia medicinal por sus propiedades anticarcinogénicas, antiulcerosas, antimalaricales, antimicrobianas. Compuestos fenólicos. Cumarinas, flavonoides, lignina y taninos: Dichas sustancias reciben el nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y derivan todas ellas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo, Las principales acciones, cumarinas son antiespasmódica, vasodilatadora, antiinflamatoria, efecto antioxidantes y vasoprotectora. Los flavonoides está demostrado que tienen actividades biológicas y farmacológicas en los estudios in vitro. Efecto antialérgico, antiinflamatorio, antioxidante, antimicrobiana (antibacteriana, antifúngica, antiviral y), anti-cáncer, y las actividades anti-diarreicas. Taninos tienen efecto astringente (antidiarréico, hemostático, cicatrizante-reepitelizante) y

bactericida. Los alcaloides son una gran familia de más de 15.000 metabolitos secundarios que tienen en común tres características: son solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula, y exhiben actividad biológica. Dependiendo de la especie y el principio activo se utiliza como: Anestésico tópico, estimulante del sistema nervioso central, bloqueante adrenérgico, Analgésico, narcótico, sedante, Estimulante del sistema nervioso central, etc. ^(4,5) Debido a que en nuestro país existen diversas especies de plantas por estudiar decidimos realizar un estudio fitoquímico a la especie *Dalea strobilacea* Barnedy. (Hierbaichil), y demostrar así el uso medicinal tradicional, mediante marcha fitoquímica para identificar los fitoconstituyentes que le dan el efecto terapéutico que se le atribuye en el lugar de procedencia, ya que no existe mucha información sobre *Dalea strobilacea* Barnedy. (Hierbaichil) tomamos como referencia el estudio realizado a otras especie de la misma familia, basado en esa información en donde se le atribuye el efecto antiinflamatorio, antiparasitario antioxidante y antibacteriano. En el Perú esta planta se encuentra en dos lugares en el departamento de Huánuco y Cajamarca, en el país de Chile según la referencia esta especie es protegida a diferencia de nuestro país que crece a orillas de caminos, laderas, barrancas, comúnmente en lugares abiertos. El objetivo de este trabajo de investigación se basa en la determinación de los fitoconstituyente o metabolito secundarios mediante marcha fitoquímica, cuantificación de polifenoles totales y el efecto antioxidante en hojas, flores y tallo en *Dalea strobilacea* Barnedy. (Hierbaichil).⁽⁶⁾

Para el siguiente estudio se planteó esta interrogante:

¿La especie *Dalea strobilasea* Barnedy (hierbaichil) tendrá polifenoles y a su vez poseerá actividad antioxidante?

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo general:

- Determinar los Fitoconstituyentes totales, cuantificación de polifenoles y actividad antioxidante de *Dalea strobilacea* Barnedy. hierbaichil.

Objetivos específicos:

- Identificar fitoconstituyentes del extracto hidroalcohólicos de *Dalea strobilacea* Barnedy. hierbaichil. mediante una marcha fitoquímica en diferentes fracciones.
- Determinar el contenido de polifenoles en los extractos metanólico y acuoso de *Dalea strobilacea* Barnedy expresados en mg de catequina eq/g de muestra seca.
- Determinar la actividad antioxidante de los extractos metanólico y acuoso de *Dalea strobilacea* Barnedy expresado en mM de trolox eq/g de muestra seca.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1 Antecedentes.

Un estudio que se realizó en estados unidos por, Belofsky G, Aronica M, et al, a una especie del mismo género de Dalea, *Dalea searlsiae* demuestra cual es la actividad biológica de lo metabolitos que contiene esta planta. Para ello tuvieron que procesar la raíz y las partes aéreas de la planta logrando aislar e identificar los siguientes metabolitos: flavonones malheurans A-D Y dos flavanonas preniladas y 5 prostratol F, pterocarpans tephrosin, y milletosin y el Isoflavonoides conocidos griffonianone E y Calopogonium isoflavona, finalmente demostrándose su acción antimicrobiana. ⁽⁷⁾

Estudio realizado por Vargas L, *et al.* Fue para determinar composición química noduladas de *Lupinus bogotensis* chocho, para lo cual se obtuvo extractos etanólico al analizar los extractos se obtuvo una serie de metabolitos secundarios se identificaron alrededor de 47 metabolitos secundarios pertenecientes mayormente a isoflavonas, alcaloides flavonoides, terpenoides. ⁽⁸⁾

Con el objetivo de determinar la actividad antioxidante de las hojas de mezquite (*Prosopis velutina*) Ramírez M, *et al.* Realizaron un estudio con diferentes solventes para lo cual se obtuvo extractos en agua, etanol y agua. A demás de los polifenoles y flavonoides totales se logró identificar alcaloides algunos tóxicos, para medir la actividad antioxidante de los estratos se realizó mediante la inhibición del radical DPPH, en el cual se determinó un porcentaje de inhibición del 34%. ⁽⁹⁾

En la universidad Uladech los ángeles de Chimbote se realizó un estudio por Villanueva A J. con la finalidad de cuantificar compuestos fenólicos en las flores de la retama *Retama sphaerocarpa* L. los cuales fueron evaluados por espectrofotometría usando el método Folin-Ciocalteu y utilizando ácido gálico como referencia. Cuyos resultados muestra una cantidad de 8.69 ± 1.27 mg de ácido gálico/g de flor seca. Concluye que la retama posee una cantidad confiable de polifenoles totales. ⁽¹⁰⁾

En el siguiente trabajo realizado por López A, et al, se plasma la capacidad antioxidante de *Caesalpinia spinosa* (tara) extraídos de las localidades de Picoy y Santa Fe, ambas ubicadas en Tarma, Junín. Para este estudio se utilizó la técnica del DPPH y del ABTS para determinar la capacidad antioxidante; para la determinación la presencia de fenoles y flavonoides se utilizó el reactivo de Folin-Ciocalteu. Según los resultados la muestra proveniente de Picoy mostro una cantidad mayor de fenoles de 563.70 mg/g de extracto seco, así mismo el total de flavonoides fue de 0.664 mg/g. La capacidad antioxidante muestra una excelente respuesta en la muestra de Picoy, obteniéndose mediante el DPPH un IC50 1.244 mg/ml y con el ABTS un 35.3% de inhibición. ⁽¹¹⁾

El estudio realizado por Avilés R, et al. Para determinar la actividad antioxidante, polifenoles totales y contenido de taninos de extractos de tara, *caesalpinia spinosa* el cual determinó la curva de calibración en unas soluciones de 50-1000 $\mu\text{g/L}$ de ácido gálico en EtOH. Se prepararon tubos de ensayo con 1,58 mL de agua destilada y se agregó 20 μL de muestra, control o estándar. Luego se añadió 100 μL del reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich), se esperó 1 min y se añadió 300 μL de carbonato de sodio al 20% para luego llevar a absorbancia y toma de lectura a 765 nm. Al comparar los resultados de los extractos acuosos

valor, 149 mg EAG/g y metanólico valor, 84.8 mg EAG/g. la actividad antioxidante de las vainas de tara en la cual se utilizó cuatro solventes, El IC₅₀ de estos extractos varía entre 10 y 13 µg/mL, a diferencia de , los de la cáscara de la semilla varían entre 11 (extracto etanólico) y 36 (extracto acuoso) y los de la parte interna de la semilla varían entre 30 (extracto metanólico) concluye que todas las partes de la tara son buenos antioxidantes. ⁽¹³⁾

2.2 Bases teóricas

La historia medicinal se remota desde la antigüedad gracias a las plantas, esta ha ido creciendo en los últimos años aunque aún no han sido estudiadas todas la especie pero se sabe que son una materia imprescindible para contrarrestar cualquier enfermedad, en el Perú la el uso de la medicina alternativa tradicional se emplea con frecuencia en zonas rurales de la selva y la sierra peruana donde los conocimientos han sido transmitidos de generación en generación llegando hasta la actualidad. Los profesionales en la actualidad han tomado mayor interés es en el uso de plantas medicinales especialmente en zonas alejadas de las ciudades donde el costos de los medicamento son elevados y los pobladores no tienen la facilidad de adquirirlos. El poder curativo de las planta se basa a las sustancias químicas que posee llamados Fitoconstituyentes que se encuentran en forma compleja, estas sustancia permite a cada especie tener una acción farmacología de prevenir o curar diferentes enfermedades. ⁽¹⁴⁾

2.2.1. Los fitoconstituyentes o metabolitos secundarios

Los vegetales poseen una gran variedad de sustancias químicas que a simple vista no parecen tener ninguna función, a estos compuestos químicos se le designa metabolitos secundario o asimismo con el nombre de productos secundarios o productos naturales. Estas sustancias no participan en el proceso de fotosíntesis, transporte, respiración, síntesis proteica o asimilación de nutrientes de la planta. La distribución de un metabolitos secundarios en las plantas es limitada, ya que se encuentra frecuente mente en una sola especie o en un grupo relacionado de especies vegetales por ello se realiza diversas técnicas y métodos de extracción para obtenerlos, las propiedades de estos le dan a las plantas el color, olor, y lo más importante para el hombre son la propiedades farmacológicas. Los metabolitos secundarios se encuentran agrupados en cuatro clases principales, terpenos, Compuestos fenólicos, Glicósidos y alcaloides. ^(15,16)

Terpenos: a este grupo de metabolitos secundario se le conoce como el más abundante actualmente se estima más 40, 000 moléculas diferentes, las características de los terpenos se basa en la unión ramificada a unidades pentacarbonadas en el 2-metil-1,3-butadieno, según la estructura química hidrocarbonada, 1-6 o más unidades pentacarbonadas, estos se clasifican en, hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterterpenos, triterpenos y tetraterpenos. Su derivación es por dos rutas una es del ácido mevalónico mediante reacciones catalizadas por enzimas, esta conlleva a determinar los primeros y principales terpenos. O la ruta del metileritritol fosfato MEP que la función de este es en cloroplastos y también genera pirofosfato de isopentenilo IPP. Por ello se sabe que el isopentenil bifosfato y su isómero dimetilalil difosfato DMAPP, en la biosíntesis de los

terpenos estos son los primeros activados por reacciones de condensación catalizadas para dar lugar a prenil bifosfatos como geranyl difosfato (GPP) a estos se le conoce como el origen de monoterpenos, farnesil difosfato (FPP) mediante prenil transferasas. ^(16,17)

Saponinas: estas sustancias químicas, están compuestas por una estructura compleja formada por un núcleo esteroidal hidrofóbico y también por una parte hidrofílica que está formada por unidades de monosacáridos. Están distribuidas ampliamente en diferente especies vegetales, las saponinas se encuentran especialmente en algunas familias, como es la Agavaceae, en esta especie se encuentra gran abundancia de saponinas. Las saponinas poseen propiedades hemolíticas y tencioactivas, comúnmente las saponinas tienen la capacidad de formar espuma en soluciones acuosas, la actividad hemolítica que tienen las saponinas puede originar toxicidad para los peses. Las saponinas poseen propiedades farmacológicas y biológicas tales como, efecto, insecticida, anti-protozoos, antiinflamatorio, broncolítico, agregante plaquetario, anti-trichomonas, leishmanicida, anti-hipocolesterolemico. ^(18,19)

Alcaloides: son sustancias químicas que se encuentran en los en algunos vegetales es uno de los metabolitos secundarios que se sintetizan a través de aminoácidos, los alcaloides poseen estructuras químicas muy diversas, las actividad que poseen está ligada al sistema nervioso central, estos compuestos químicos son un gran grupo de más de 15.000 metabolitos secundarios y Principal mente se encuentra es especies como. Angiospermas, en familias como. Papaveraceae, Rubiaceae, Ranunculaceae, Solanaceae, los alcaloides resaltan características comunes tales como, contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula, son solubles en agua, y tienen actividad biológica. La mayoría de los alcaloides

son heterocíclicos pero existen algunos que son compuestos nitrogenados alifáticos (no cíclicos) como la mescalina o la colchicina, ^(19,20)

2. 2. 2. Actividad farmacológica de los alcaloides

En los seres humanos, los alcaloides ejercen respuestas fisiológicas y psicológicas esto se debe a las interacción con neurotransmisores. Todos los alcaloides son tóxicos cuando se administra a dosis elevadas, cuando la dosis es baja y es vigilada ejerce un alto valor terapéutico como relajante, tranquilizantes, analgésicos, sedante. Para el tratamiento de dolor agudo se emplea la morfina esto provoca somnolencia, también se utiliza la tebaina, codeína o metilmorfina, que también pueden contrarrestar el dolor y la tos convulsiva. La apaverina, posee especialmente acción antiespasmódica (arteriales, digestivos, vesicales, y uterinos), vasodilatadora y antiarrítmica. Derivados del opio se usan como antidiarreicos, tiene su acción sobre los movimientos peristálticos del intestino. ⁽²⁰⁾

2. 2. 3 Compuestos fenólicos. (Flavonoides, cumarinas, y taninos.)

Flavonoides: forman un grupo esencial de sustancias químicas en los vegetales esto se encargan de la regulación del crecimiento hormonal de las plantas y controlan el nivel de las auxinas, la cual proviene de la luz solar. Estos se encuentran en los frutos, hojas, semillas de los vegetales, se estima más de 5,000 distintos flavonoides los cuales se pueden encontrar en estos grupos: Ácido elágico: presentes en frutas y verduras como la uva; Antocianidinas: se encuentra en las cerezas, por lo mismo que le da la coloración rojiazulado o rojo cereza; Catequina: estos están presentes en el té negro y verde; Citroflavonoides: este tipo de flavonoides son los que le dan el sabor amargo a los vegetales; Isoflavonoides: como son la daidzeína y la genisteína, se encuentran en la soja, proteínas

vegetales, porotos etc; Kaemferol: la presencia de estos flavonoides se encuentran en, remolacha roja, puerros brócoles, endibias y rábanos; Proantocianidinas: los vegetales o semillas que poseen este tipo de flavonoides son semillas de las uvas, vino tinto y en el extracto de corteza de pino marino. ⁽²¹⁾

2. 2. 4 Clasificación de los flavonoides.

Antocianidinas: estos posee un grupo –OH unido el cual está en posición 3, también presenta doble enlace el cual está entre el carbonos 3 y 4 del anillo C Ejemplo, antocianidinas.

Flavanos En posición 3 del anillo C presenta un grupo –OH. Ejemplo, catequinas.

Flavonas las flavonas carecen de grupo hidroxilo y en su posición C3. Y presenta en su anillo C presenta un grupo carbonilo en posición 4 Ejemplo, Diosmetina. Flavonoles presentan grupo –OH en la posición 3 de su anillo C, y un grupo carbonilo en la posición 4. Ejemplo, Quercetina. Propiedades de los flavonoides: posees actividad relajante, astringente, actividad antiinflamatoria, protección gástrica, analgésica, también como antiagregante plaquetario, posibles agente neuroprotector, posible actividad hepatoprotectora, ^(21,17)

farmacocinética: antes de absorberse los flavonoide se divide, por una parte da lugar a glicósido y por otro lado a aglicona, el que posee una solubilidad mayor en agua el glucósido el cual se absorbe ligeramente, la que puede tardar en absorberse un poco más es la aglicona alrededor de tres horas. Los flavonoides alcanza el pico más alto de las concentraciones en 1,75 h. la distribución en los tejidos es homogéneamente estos también pueden atravesar la barrera hematoencefálica Se distribuye homogéneamente en los tejidos corporales, los flavonoides que atraviesan la barrera hematoencefálica son los flavonoides que son más lipofílicos (como la naranjina) experimentan un metabolismo de primer paso su

metabolitos eliminados por la bilis son reabsorbidos los cuales ya carecen de alguna función. La evolución de los flavonoides es acelerada la cual se da en dos lugares, en el hígado y colon en la primera se da por unas reacciones de biotransformación de fase I, en esta reacción se muestran grupos polares. En la segunda que es en el colon, donde los flavonoides son conjugados los que no se absorbieron con glicina, ácido glucurónico y sulfatados, previamente son degradados por la microbiota intestinal. Una vez conjugados se produce la eliminación o excreción se eliminan por vía renal si el flavonoide ha sido glucuronidado (como la catequina), y por vía hepática si el flavonoide ha sido metilado y sulfatado (como la quercetina).^(21,22)

2. 2. 5. Actividad antioxidante de los flavonoides: la acción antioxidante de los flavonoides se presenta al darse una mezcla de sus propiedades quelantes de hierro y atrapadores de radicales libres, por otro lado mediante la inhibición de la enzima oxidasas: mieloperoxidasa, ciclooxigenasa, lipooxigenasa, y la enzima xantina oxidasa, impidiendo que se forme una variedad de reacciones de oxígeno y de hidroperóxidos orgánicos. Al unirse tiene la capacidad inhibitoria de enzimas implicadas secundariamente en los métodos de oxidación, como es la enzima fosfolipasa A; esto al mismo tiempo va a incitar a otras enzimas con el mismo poder antioxidante, como es la enzima superóxidodismutasa y la catalasa. Gracias a la estructura química que tienen los flavonoides, es por ello que tienen la actividad antioxidante, debido que en su posición 3' y 4' en el anillo B, que posee sustituyentes dihidroxílicos. Y esta actividad se potencia debido a que entre los carbonos 2 y 3 presenta dobles enlaces, también un grupo carbonilo en la posición 4, y en la posición 3 un grupo OH libre. Por todo ello es que cumplen un rol fundamental para la protección frente a anomalías

que causa la oxidación y a su vez presentan acciones terapéuticas en un amplio número de enfermedades. (21, 23,24)

Cumarinas: se les atribuye también el nombre de benzopironas que a su vez forman parte de una familia de sustancias de origen sintético y natural, lo cual por su poder y acción biológica ha despertado un interés que se han originado desde mucho tiempo atrás. Esta se encuentra en diferentes partes de la planta como puede ser en flores, hojas, frutos y raíces. Actividad biológica de las cumarinas: por la diversidad estructural que presenta las cumarinas estas moléculas presentan muchas actividades farmacológicas. Como son, actividad antimicrobiana, actividad antiinflamatoria, actividad antiespasmódica, actividad antiviral, actividad antihelmíntica, actividad antioxidante, o inhibidoras enzimáticas. También tienen acción antitumorales o como agentes fotoquimioterápicos, estas últimas son derivados tricíclicos o tetracíclicos. Que a su vez sirven como tratamiento de la psoriasis. (25)

Síntesis de cumarinas o análogos de cumarínicos se logró en los últimos años lográndose encontrar en ellos la actividad antimonooxidasa (iMAO). Ya que esta se considera una flavoenzima esta enzima esta liada se le atribuye el poder de degradación de aminas y esta muestra dos isoformas como son MAO-A y MAO-B. Estas forman parte las células neuronales las cuales se encuentran en las membranas mitocondriales, también forman parte de la desanimación de algunos neurotransmisores tales como noradrenalina, serotonina y adrenalina. , e esto se debe estudios terapéuticas como iMAO, como puede ser para tratar el Parkinson (iMAO-B) como así también para tratar la depresión (iMAO-A). Existen estudios confirmado de ciertas cumarinas que tienen una acción inhibitoria de la tirosinasa. La tirosina esta liada con la oxidación de L-tirosina a dopaquinona esa viene a ser un mediador

importante para el anabolismo de melanina, la melanina es pigmento liado en varias técnicas biológicas como son la hiperpigmentación en la piel. Además sirve como conservante y estabilizante estos usos se le dan en la industria de alimentos, también en la industria de comestibles, etc. ^(25,26)

Taninos: se estima que alrededor de 500 especies de vegetales son las que poseen estos compuestos. Vienen a ser parte fundamental de las plantas, se les conoce como polímeros polifenólicos los cuales son producidos por los vegetales como compuestos secundarios y debido a su estructura compleja, estas estos pueden formar complejos con polisacáridos, ácidos nucleicos, proteínas, esteroides y saponinas, debido a esta complejidad es que les atribuye una acción protectora de algunos insectos. El lugar de almacenamiento de los taninos es en las células del parénquima, también se puede encontrar en las fibras, vasos y las paredes celulares vegetales, están almacenados hasta el momento que son expulsándolos por la vacuola, es ahí que se dispersan a distintas partes de la planta a través de métodos de difusión. Debido a variabilidad de la acción y función de los taninos esta se desconoce en su totalidad, la síntesis de estos compuestos se cree que está unida a la acción clorofiliana, la cual se da por medio del fenómeno de la fotosíntesis, se comprobado que por lo general la parte del vegetal exhibidas al sol estas presentan mayor concentración de taninos. ⁽²⁷⁾

RADICALES LIBRES

Se les conoce como radicales libres a aquellos átomos que en su estructura contienen uno o más electrones impares también puede ser moléculas, esto hace que sean muy inestables y muy reactivos poseen una corta vida. Las sustancias altamente reactivas que se produce por la combustión química metabólica aerobio en un el organismo normal como puede ser;

peróxido de hidrógeno, el anión superóxido, Especies Reactivas de oxígeno ERO: óxido nítrico, radical peroxinitrito), etc. Los radicales también se dan por exposición a la contaminación, aditivos en los alimentos, tabaco, pesticidas, radiación. Etc. En condiciones normales el organismo anula los radicales libres mediante procesos antioxidativos esto involucra la liberación y producción de enzimas antioxidantes como son la glutatión peroxidasa, catalasa, y la superóxido dismutasa, para evitar el daño oxidativo. El estrés oxidativo se produce cuando la magnitud del sistema antioxidante es superada por las sustancias altamente reactivas, produciendo así enorme daño celular y biomolecular, lípidos, proteínas, polisacáridos y ácidos nucleicos, esto está asociado con diferentes enfermedades, cáncer, alteraciones cardiovasculares, diabetes etc. ⁽²⁸⁾

Biomecanismos de formación de radicales libres

Mediante de la reacción de traslación de electrones se da la elaboración de radicales libres esta acción de ejecuta en la célula, por intermedio de iones metálicos de transición, se produce con o sin proceso enzimático, como se da en el radical OH que se crea cuando el H₂O₂ entra en contacto con iones cobre (Cu⁺²) así ismo el iones fierro (Fe⁺²); ya que el H₂O₂ y los complicados metálicos se encuentran presentes en las personas, se puede aceptar que el OH se logra formar in vivo, la formación de radicales libres se da en tres pasos. 1. Transferencia electrónica, en la que se produce la cesión de un electrón a una molécula. 2. Pérdida de un protón de una molécula. 3. Ruptura homolítica de un enlace covalente de cualquier molécula, de manera que cada fragmento obtenido conserva uno de los electrones apareados del enlace. Si el consumo de O₂ en nuestro organismo. Si en nuestro organismo las células consumen O₂ mas del 95% este es reduce vía acuosa, citocromo oxidasa

mitocondrial, totalmente a H₂O durante la respiración mitocondrial, un parte pequeña (<5%) es cambiado a ERO. Cuando el radical libre se forma en la reacción de iniciación, este tiene la magnitud de conferir el electrón a cualquier otra sustancia o compuesto dando lugar así a nuevos radicales libres, lo cual compone la reacción de transmisión en cadena que puede desarrollar tanto que puede llegar a afectar a los tejidos corporales. ^(28,29)

Efecto nocivo de los radicales libres en la biomolecular (lípidos.)

Se le conoce como enranciamiento oxidativo o peroxidación lipídica que daña la permeabilidad de la membrana celular y los ácidos grasos poliinsaturados son afectados en su estructura el resultado es edemas y muerte celular. Los ácidos grasos insaturados son parte de la composición de la membrana célula los cuales le brindan una estabilidad para que esta tenga una buena función, pero estos son sensibles a la agresión por los radicales libres. Existen algunos factores que median en la peroxidación lipídica; el medio del agente que se inicia, los compuestos de la membrana en ácidos grasos poliinsaturados y su accesibilidad, la opresión de oxígeno, la concentración de hierro, lo que contenga la celular en antioxidantes (betacarotenos, alfatocoferoles, glutatión), la iniciación enzimática que pueden terminar la cadena de reacción como es el caso de la glutatión peroxidasa (GSH-Prx). Iniciado este proceso promueve la elaboración de radicales libres el cual dan lugar a la creación de peróxidos orgánicos y otras sustancias, a partir de ácidos insaturados, cuando estos radicales libres ya están desarrollados ocasionan los efectos citotoxicos. ^(29,30)

Efecto nocivo de los radicales libres en la biomolecular (proteínas)

Las proteínas están formadas por cadenas de aminoácidos los cuales son débiles a los ataques de los radicales libres como el radical hidroxilo, aunque algunas son más sensibles como son la fenilalanina, la histidina, la tirosina, el triptofano, la metionina y la cisteína, además se crean entrecruzamientos de cadenas peptídicas esto modifica la estructura y la pérdida de sus funciones biológicas, el óxido nítrico (NO). Se conoce como el que más reactivos las estructuras de las proteínas, uno de los mecanismos por el cambio estructurales en las proteínas intervención de los radicales libres se le conoce como auto-oxidación de hexosas que muestran la fructuosa y glucosa, esto tiene lugar a las complicaciones que se relaciona a personas con diabetes. ⁽³⁰⁾

Efecto nocivo de los radicales libres en la biomolecular. Ácido desoxirribonucleico (ADN).

Existe una mínima posibilidad pero si es posible, la interacción de los radicales libres con el ADN origina cambios en las bases y rompimiento de una o de la doble cadena y por ende pérdida de nucleótidos, lo cual conlleva a la mutación de los genes. Dichas alteraciones en las bases se relaciona a metales de transformación principalmente al ion ferroso (Fe^{2+}), que se halla ensamblado al ADN y que, en aspecto del peróxido de hidrógeno (H_2O_2), crea el hidroxilo (OH^-) que cambia las bases. El hidroxilo logra agredir tanto purinas como pirimidinas, así también de crear rompimientos en las cadenas de ADN. ^(30,29)

Teoría del envejecimiento asociada a los radicales libres

La teoría planteada por Harman en 1956. Indica la relación que tiene el envejecimiento con los radicales libres formados por el metabolismo del oxígeno es el que origina el perjuicio a las células, estos causan variaciones en el metabolismo, según la teoría los antioxidantes que producen las células del organismo no son capaces de detoxificar las sustancias altamente reactivas del oxígeno que se genera, por lo concerniente al envejecimiento de las células estaría coligado al estrés oxidativo crónico. Diversos escritores han relacionado el envejecimiento y la oxidación del glutatión en distintos animales, la cual se basa en una elaboración elevada de radicales libres o a su vez en una deficiencia de los mecanismos y capacidad de detoxificación. Por lo tanto el envejecimiento está ligado a una baja producción enzimática catalizadora del glutatión, como la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa o la glutatión reductasa, debido a esta disminución se genera un aumento enzimático que beneficia la oxidación del glutatión como la transferasa, o la glutatión peroxidasa. ^(31,32)

ANTIOXIDANTES

Un antioxidante es una sustancia que tiene la capacidad de retrasar, inhibir o prevenir la oxidación de un sustrato capaz de ser atacado por ERO. Mediante los alimentos es que se ingieren a las moléculas antioxidantes exógenas, la cantidad de sustancias antioxidantes dependerá de la alimentación equilibrada y considerada de cada individuo. Los más importantes son, la Vitamina C, Los Beta-carotenos, la Vitamina E, los minerales como, el cinc, el cobre, el selenio y el manganeso cumplen una importante actividad en el sistema redox del organismo. ⁽³³⁾

Según mecanismos de acción:

Previene o atrasa la oxidación de un sustrato biológico a su vez puede restituir en las moléculas afectadas el daño oxidativo.

Mecanismo preventivo: (reductores de peróxidos orgánicos e inorgánicos) esto se da al inicio de una cadena de oxidación, forman parte muchas proteínas, que tienen núcleos coordinados o con contenido de enlace de metales, como la metalotioneína, albúmina y ceruloplasmina, que tienen un núcleo central de cobre (Cu); y la transferrina, ferritina y mioglobina, que tienen un núcleo central de hierro (Fe). es así que se evita la formación de ERO dañino.

Mecanismo reparador: formado por enzimas que remedian o eliminan las biomoléculas fueron afectadas por la agresión de ERO, como la metionina-sulfóxidoreductasa (MSR), glutatión reductasa (GR) y glutatión peroxidasa (GPx). Estas enzimas operan como mediadoras en dicho proceso restaurador del daño oxidativo, Cualquier sustancia que inhiba o cambie su actividad es aliada para mejorar el estrés oxidativo

Mecanismo secuestrador encerrando en cierto período el enlace de oxidación, una vez iniciada, atrayendo radicales libres. Vitamina E y C, enzima superóxido dismutasa. Interactúa seguida con sustancias reactivas, previene de la aparición enzimática de sustancias reactivas, alerta de la creación de sustancias reactivas adjuntas de metales (como agentes quelantes), se activa o induce de la activación del mecanismo de enzimas antioxidantes. (34,

35,36)

2. 2. 6. TAXONOMÍA:

HIRBAICHIL (*Dalea strobilacea* Barnedy.)

Nombre común: hierbaichil, Ramoncillo, escobilla.

Nombre científico: *Dalea strobilacea* Barnedy.

REINO: Plantae

DIVISIÓN: magnoliophyta

CLASE: magnoliopsida

ORDEN: Fabales

FAMILIA: Fabaceae

GÉNERO: Dalea

ESPECIE: *Dalea strobilacea* Barnedy. (Aiton) Barneby. ⁽³⁷⁾

Origen y distribución geográfica

Área de origen, México y suroeste de E.U.A.

DISTRIBUCIÓN: En México: Se ha registrado en Chihuahua, Coahuila, Estado de México, Jalisco, Morelos, Michoacán, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Tamaulipas y Veracruz (Barneby, 1977; ^(38,39)

En Perú: Cajamarca, Huánuco.

Identificación y descripción

Arbusto de tallos verrugosos, relativamente pocos foliolos (usualmente solo 6 a 12), espigas angostas de flores púrpura, con los lóbulos del cáliz cortos y con brácteas largamente persistentes. **Hábitat**, Orillas de caminos, laderas, barrancas, comúnmente en lugares abiertos (Barneby, 1977) **Tamaño**, De hasta 2 m (raramente 3.5 m) de alto. **Tallo**, Los tallos leñosos más viejos a veces fisurados, los jóvenes generalmente con abundantes glándulas en

forma de pequeños granos, con pelillos a veces muy abundantes. **Hojas**, Sobre el tallo, en el punto donde nace cada hoja, se presenta un par de estructuras como hojitas llamadas estípulas de hasta 4.5 mm de largo, angostas. Las hojas alternas, casi sésiles, de hasta 3 cm de largo, compuestas de 4 a 12 (raramente hasta 18) hojitas (foliolos) de forma variable, de color verde o cenizo y de hasta 8 mm de largo, generalmente cubiertas de pelillos.

Distribución altitudinal, De los 500 a los 2700 msnm (Barneby, 1977). ⁽³⁹⁾

Conservación

Actualmente esta especie no se encuentra incluida dentro del Sistema de Áreas Silvestres Protegidas del Estado (SNASPE), ni otro sistema de conservación In situ, esto hace que su condición actual sea más riesgosa a la extinción. Esta situación que se ve agravada por la constante presencia de ganado caprino, además de burros y ovejas que continuamente se encuentran pastando en la zona. Esta especie ha sido considerada en un plan de conservación Ex situ desarrollado por INIA, con el apoyo del Royal Botanic Gardens de Kew de Reino Unido y Rio Tinto Plant for Life. Este programa contempla propagación, cultivo, incrementos en semillas y conservación de semillas en bancos de semillas. ⁽⁴⁰⁾

Posología

En infusión, una poción de las ramitas de *Dalea strobilacea* B. se pone a hervir en agua por 5 minutos, esto usa es para tratar dolores estomacales, dolor leves de cabeza, pulmonía la tos ferina, para curar heridas, lesionasen, tiene propiedades antiinflamatorias, para tratar las diarreas, y también como antiparasitaria. No se han reportado efectos adversos. ^(38,41)

III. HIPOTESIS:

La especie vegetal *Dalea strobilacea* Barnedy. (Hierbaichil) presenta entre sus fitoconstituyentes contiene polifenoles y posee actividad antioxidante, queda demostrado mediante estudio de marcha fitoquímica, indicadores, reacciones químicas, y extracción exhaustiva.

IV. METODOLOGIA:

4.1. Diseño de la investigación.

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

4.1.1 Obtención de los extractos.

4. 1. 2 Extracto hidroalcohólicos para metabolitos secundarios:

Para obtener el extracto se realizó una marcha fotoquímica. En la cual se fracciono al menos 5 fracciones del extracto para luego realizar las reacciones e identificaciones de las sustancias químicas (fitoconstituyentes).

A 100g de la muestra seca pulverizada se le macero con alcohol de 80° aproximado 500ml, durante 7 días en un envase de color ámbar, luego se llevó reflujo por el lapso de tiempo de 2 horas, al cabo de este tiempo se filtró en caliente, se tomando 20ml de esta filtrado que viene hacer una fracción A. con el resto de extracto se procedió a secarlo, una vez seco se le agrego HCl 1% se llevó abañó maría por 15 minutos y se filtró obteniendo así la fracción B. para esto se tomado 15 ml de la solución acida. A la solución acida se lo alcalinizo con NH₄OH/pH 8.5 a medio volumen todo esto en una pera de decantación. Se agregó cloroformo y se filtró 2 veces obteniendo así 2 soluciones clorofórmicas y etanólica. La solución clorofórmica viene a ser la Fracción C, a esta solución se le agrego sulfato de sodio

y así obtuvo una solución libre de cualquier partícula de agua que pudiera interferir para las reacciones requerida. A la solución etanólica se le agregó nuevamente cloroformo se decanta y automáticamente obtuvimos la fracción D Y E. para la fracción F se tomó 20 mg de la muestra y se coloca con agua y se llevó a calor por 15 minutos se filtró y se obtiene la fracción. Con estas fracciones se pasó a realizar las reacciones necesarias para la identificación de los fitoconstituyentes. ⁽⁴²⁾

4. 1. 3. Obtención del extracto metanólico con metanol al 80%.

El procedimiento se realizó con la hoja, flores y tallo de la planta, recolectada en perfectas condiciones, la muestra fue secada a 70°C en estufa por 48 horas y luego pulverizadas licuadora de laboratorio hasta lograr partículas finas. La muestra se almacena en bolsas de plástico y se sella cada una por separado. Luego se realiza la extracción exhaustiva, de las hojas de *Dalea strobilacea* B se pesa, 0.25g. Flores 0.25g. Tallo 0.50g. Las cuales se coloca en unos tubos de ensayo se adiciona 15ml de metanol al 80% luego se lleva a un agitador magnético por 30 minutos, esto se repite 3 veces, cada muestra por separado, en cada repetición se retira el sobrenadante y este se pasa a una fiole cada muestra por separado y se almacena hasta su respectivo análisis. ^(43,44)

4. 1. 4. Determinación de polifenoles totales

En una fiole de 10 ml agregar 2.5 ml de agua destilada tipo II, luego se agregan 100 µL de muestras para hojas y flores, para tallos se agregó 100 µL igualmente. Luego adicionar 500µL de reactivo de folin y se pone en oscuridad por 5 minutos. Después se agregan 2.5 mL de carbonato de sodio al 10%, seguidamente aforar con agua destilada tipo II y se coloca en oscuridad por 90 minutos. Terminado el tiempo se realiza la lectura a $\lambda = 700$ nm, se repite 3 veces 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 catequinas. Los estándares se prepararon a concentraciones de 0,5; 1; 2,5; 5; 7,5 y 10 ppm. (Mg/L)^(43,45)

El contenido de fenoles totales fue expresado en mg catequinas/g de muestra seca, se realizó por triplicado.

4.1.5 Ensayo de DPPH en extracto metanólico al 80%

La metodología y el procedimiento para el preparado de este extracto en la misma para el extracto por infusión y decocción.

En un tubo especial se coloca una alícuota de 50µL del extracto metanólico y con 900µL de reactivo metanólico, se diluye, y luego se agrega en una cubeta de cuarzo un volumen de 1450µL del reactivo de DPPH. Y se toma lectura y se toma lectura en el espectrofotómetro a una $\lambda = 500$ nm la pruebas se repites tres veces cada muestra. Los resultados en porcentaje fueron extraídos con la ecuación $\frac{\text{absorbancia a tiempo } 0 - \text{absorbancia tiempo } 15}{\text{absorbancia tiempo } 0} \times 100$ ^(43,44)

4.1.6 Preparación del extracto acuoso en infusión y decocción.

Infusión

En una vaso de precipitación se midió 200ml de agua destilada tipo II se lleva a ebullición luego de retira del fuego y se agrega la muestra 1g de muestra para hojas y flores, para tallo se pesó 1g. Esta se tapa con papel aluminio por 5 minutos se retira el papel aluminio y se deja enfriar.^(46,47)

Decocción.

En una vaso de precipitación se midió 200ml de agua destilada tipo II se pone a ebullición se pesa 1g de muestra aproximado, se agrega y se deja en ebullición por 10 minutos se retira del fuego y se filtra, se deja enfriar. ^(46,47)

4.1.7. Determinación de polifenoles del extracto en infusión y decocción.

En una fiola de 10 ml agregar 2.5 ml de agua destilada tipo II, luego se agregar 100 μ L de muestras para hojas y toleres, para tallos se agregó 100 μ L. Luego adicionar 500 μ L de reactivo de folin y se pone en oscuridad por 5 minutos. Después se agregar 2.5 mL de carbonato de sodio al 10%, seguidamente aforar con agua destilada tipo II y se coloca en oscuridad por 90 minutos. Terminado el tiempo se realiza la lectura a $\lambda = 700$ nm, se repite 3 veces para cada una de las muestras. ^(46,47)

4.1.8. Ensayo de DPPH en infusión y decocción.

En un tubo especial se coloca una alícuota de 50 μ L del extracto y con 900 μ L de reactivo metanólico, se diluye, y luego se agrega en una cubeta de cuarzo un volumen de 1450 μ L del reactivo de DPPH. Y se toma lectura y se toma lectura en el espectrofotómetro a una $\lambda = 500$ nm la pruebas se repites tres veces cada muestra. Los resultados en porcentaje fueron extraídos con la ecuación $\frac{\text{absorbancia a tiempo 0} - \text{absorbancia tiempo 15}}{\text{absorbancia tiempo 0}} \times 100$ ^(46,47)

4.1.9 Equipos de laboratorio:

- ✓ Equipo de reflujo
- ✓ Rota vapor
- ✓ Cocina eléctrica
- ✓ Vasos de precipitación
- ✓ Embudo de decantación
- ✓ Embudos, Probetas
- ✓ Pipetas graduadas
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Balones
- ✓ Matraces Gradillas
- ✓ Capsulas de porcelana
- ✓ Papel filtro, Espátula
- ✓ Varillas de agitación
- ✓ Papel filtro, indicador
- ✓ Frascos de vidrio color ámbar
- ✓ Cubetas de cuarzo
- ✓ espectrofotómetro

Reactivos y reacciones

- ✓ Reacción de gelatina
- ✓ Reacción de shinoda
- ✓ Reacción de tricloruro férrico
- ✓ Reacción de Lieberman
- ✓ Reacción de borntrager
- ✓ Reacción de rosheneim
- ✓ Reacción dragendorff
- ✓ Metanol 80%
- ✓ Reactivo de (DPPH)
- ✓ carbonato de sodio

4. 2. Población y muestra.

Población vegetal:

La muestra *Dalea strobilacea* B. (hierbaichil), fue recolectada y traída desde el distrito de matara departamento de Cajamarca el mes de marzo, en este tiempo en que la especie está en su máxima crecimiento, porque solo en temporada de lluvia en que la planta crece mejor. Se designó un día específico para el recojo de la muestra ya que dicha especie se encuentra en lugar apartado de la ciudad.

Muestra vegetal:

Se empleó alrededor de 500g. La muestra fue secada en estufa a 70°C, y una parte a temperatura ambiente y luego se pulverizó cada parte de la planta por separado en molino y licuadora especial para este tipo de preparado, la muestra fue almacenada hasta realizar los extractos.

4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores
Cantidad de fitoconstituyentes de <i>Dalea strobilacea</i> B. (hierbaichil)	Cantidad de fitoconstituyentes expresados por fracción.	Extracción de fitoconstituyentes mediante técnicas de extracción e indicadores de coloración.	Rx. gelatina Rx. FeCL3 Rx. shinoda Rx. Lieberman-burchard Rx. Borntranger Rx. Rosenheim
Cantidad de polifenoles en hojas, flores, tallo de <i>Dalea strobilacea</i> B. (hierbaichil)	Cantidad de Polifenoles totales expresados en mg. x gr. de muestra.	Identificación de polifenoles totales con el método de Folin Ciocalteau y a través del espectrofotométrico.	Polifenoles totales (mg de catequina eq./g de muestra seca)
Capacidad antioxidante de las hojas, flores, tallo de <i>Dalea strobilacea</i> B. (hierbaichil)	Porcentaje del efecto antioxidante en mg. x gr. de muestra.	Capacidad antioxidante mediante el reactivo de (DPPH). Mediante absorbancia por espectrofotometría.	DPPH (mm Trolox Eq./1 g muestra seca

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnicas: Técnica de observación para registro colorimétrico en la identificación de metabolitos secundarios de las fracciones según la marcha fitoquímica. Registro de los valores de absorbancia por espectrofotometría, para la técnica de Folin Ciocalteau en la cuantificación de polifenoles y ensayo de DPPH para efecto antioxidante.

4.5. Plan de análisis.

Para el análisis de los datos, estos se agrupan y se presentan en tablas graficas expresando los valores medios \pm error estándar.

4.6. Matriz de consistencia:

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLE DE INVESTIGACIÓN	TIPO DE INVESTIGACIÓN	POBLACIÓN Y MUESTRA	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN
determinación de los fitoconstituyentes, cuantificación de polifenoles y actividad antioxidante de la <i>Dalea strobilacea</i> B. (hierbaichil)	¿La especie <i>Dalea strobilacea</i> Barnedy (hierbaichil) tendrá polifenoles y a su vez poseerá actividad antioxidante?	<p>Objetivo general: Determinar los Fitoconstituyentes totales, cuantificación de polifenoles y actividad antioxidante de <i>Dalea strobilacea</i> B. Hierbaichil.</p> <p>Específico: Identificar fitoconstituyentes del extracto hidroalcohólicos de <i>Dalea strobilacea</i> B. hierbaichil, mediante una marcha fitoquímica en diferentes fracciones.</p> <p>Establecer la curva de calibración (o estándar) catequinas como patrón de los polifenoles</p> <p>Establecer la curva de calibración (o estándar) del trolox como estándar de la actividad antioxidante</p>	La especie vegetal <i>Dalea strobilacea</i> Barnedy. (Hierbaichil) presenta entre sus fitoconstituyentes contiene polifenoles y posee actividad antioxidante, queda demostrado mediante estudio de marcha fitoquímica, indicadores, reacciones químicas, y extracción exhaustiva.	Los fitoconstituyentes poseen acción biológica y farmacológica. Según la concentración de polifenoles será el efecto antioxidante a más concentración de polifenoles mayor acción antioxidante.	Experimental Observacional Cualitativo	Población vegetal: Muestra vegetal: 100 g de hojas flores y tallo de dalea strobilasea B.	<p>Mediante marcha fitoquímica. Utilización de reactivos específicos para la identificación de los metabolitos.</p> <p>Técnica de foling para fenoles.</p> <p>DPPH para actividad antioxidante.</p>

4.7. Principios éticos.

Se tomaron en cuenta los valores éticos de una investigación en lo que se realiza estudios de reconocimiento de las propiedades de los vegetales, respetando el uso tradicional de *Dalea strobilacea* B. hierbaichil y el legado de las personas que lo usan, con la finalidad de demostrar las características y sustancias químicas que posee cierta especie. Y que demuestre interés para nuevos estudios que demuestren los efectos farmacológicos de dicha planta. ⁽⁵⁰⁾

V. RESULTADOS:

5.1 resultados.

Tabla 1: Resultados de identificación de fitoconstituyentes de *Dalea strobilacea* B.

“hierbaichil.”

Frac ción	Metabolitos	Reacción	Características	Result ado	Metabolitos encontrados
A	TANINOS	Rx. gelatina	Precipitado	+++	Taninos
		Rx. FeCL3	Verde derivado de (catecol)	++	Catecol
	FLAVONOIDES	Rx. shinoda	Rojo (flavonas y flavononas)	+++	Flavonas y flavonoles
B	ESTEROIDES	Rx. Lieberman-burchard	Color rojo	+++	Triterpenos
	QUINONAS	Rx. Borntranger	Color rojo	++	Quinonas
C	ESTEROIDES	Rx. Lieberman-burchard	Color Naranja	+++	Triterpenos
	ALCALOIDEOS	Rx. Dragendorff	Color rojo	+++	Alcaloides
D	FLAVONOIDES	Rx. Shinoda	----	---	---
	ESTEROIDES	Rx. Lieberman-burchard	Ligeramente Naranja	++	Triterpenos
	ALCALOIDEOS	Rx. Dragendorff	Ligeramente rojo	++	Alcaloides
E	FLAVONOIDES	Rx. Shinoda	Rojo ladrillo	++	Chalconas
	LEUCOANTOCIANIDINAS	Rx. Rosenheim	Verde oscuro	+++	Leucoantocianidinas

Fuente: datos de la investigación.

Leyenda

Alta concentración: (+++)

Poca concentración: (++)

No hay presencia de fitoconstituyente: (-)

Tabla 2:

Contenido de polifenoles totales de los extractos expresados por gramo en catequina de hojas, flores, tallo de *Dalea strobilacea* B. hierbaichil.

<i>Dalea strobilacea</i> B.		Polifenoles totales (mg de catequina eq./g de muestra seca)	DS
Extracto metanólico	hojas	77.97	± 0.90
	flores	75.83	± 1.53
	tallo	49.58	± 2.76
Extracto por infusión	hojas	47.59	± 1.07
	flores	63.29	± 2.65
	tallo	44.83	± 0.92
Extracto por decocción	hojas	52.45	± 1.40
	flores	67.44	± 0.77
	tallo	59.91	± 1.08

Fuente: Datos confiables de la investigación, repetición 3 veces.

Tabla 3:

Resultados de la desviación estándar (o estándar) del trolox como estándar de la actividad antioxidante

<i>Dalea strobilacea</i> B.		DPPH (mm Trolox Eq./1 g muestra seca	DS
Extracto metanólico	hojas	932.40	± 71.89
	flores	956.80	± 12.91
	tallo	548.43	± 19.87
Extracto por infusión	hojas	206.09	± 2.10
	flores	226.27	± 7.53
	tallo	208.84	± 7.85
Extracto por decocción	hojas	129.60	± 8.31
	flores	190.40	± 2.29
	tallo	150.99	± 12.88

Fuente: Datos puros de la investigación, repetición 3 veces

5.2. Análisis de resultados.

En la **Tabla 1** se observa que los fitoconstituyentes en *Dalea strobilacea* Barnedy. hierbaichil en mayor concentración fueron taninos, flavonoides, alcaloides, esteroides, leucoantocianidinas. Estos resultados coinciden con una investigación realizada en Estados Unidos por Belofsky G, Aronica M, et al ⁽⁴³⁾ en el año 2014 quienes identificaron flavononas flavonones, isoflavona, e Isoflavonoides en una especie del mismo género conocido como *Dalea searlsiae*.

La **tabla 2** muestra que la concentración de Polifenoles totales en el extracto acuoso por infusión en hojas fue 47.59 ± 1.07 ; en el extracto acuoso por decocción fue 52.45 ± 1.40 y en el extracto metanólico fue 77.97 ± 0.90 , polifenoles totales (mg de catequina Eq. /g de muestra seca). También podemos observar en **la tabla 2** que en los tallos e el extracto acuoso por infusión fue 49.58 ± 2.76 ; en el extracto acuoso por decocción fue 59.91 ± 1.08 y en el extracto metanólico fue 49.58 ± 2.76 , polifenoles totales (mg de catequina Eq. /g de muestra seca). En cuanto a las flores, **la tabla 2** muestra que en el extracto acuoso por infusión fue: 63.29 ± 2.65 ; en el extracto acuoso por decocción fue 67.44 ± 0.77 y en el extracto metanólico fue 75.83 ± 1.53 polifenoles totales (mg de catequina Eq. /g de muestra seca).

El género *Dalea strobilacea* B no tiene estudios de contenido de polifenoles, pero en la misma familia Villanueva A J ⁽¹⁰⁾. Cuantifico polifenoles totales en flor de Retama sphaerocarpa L. Retama, una especie de la misma familia Fabaceae. En la cual se encontró 8.69 ± 1.27 cantidad regular mente significativa.

Claramente se demuestra que el solvente más adecuado de extracción para polifenoles totales es el metanol. Por lo siguiente podemos afirmar que los compuestos fenólicos tienen más

afinidad por el metanol que por el agua. Este mecanismo se debe a la polaridad de las soluciones usadas para la extracción de los compuestos fenólicos, lo cual muestra que los compuestos fenólicos tienen una polaridad al metanol que al agua. Sin embargo no todos los compuestos fenólicos tienen esta polaridad por solvente metanólico. ^(48,49) Existen diversos compuestos fenólicos que se puede extraer a temperatura elevada. En este trabajo se demostró que los compuestos fenólicos que presenta *Dalea strobilacea* B. tienen más afinidad por el solvente metanólico.

En la tabla 3, se aprecia actividad antioxidante de la desviación estándar del trolox como estándar de la en reactivo de DPPH como indicador estándar, el cual para el extracto acuoso en infusión en hojas fue 206.09 ± 2.10 ; en el extracto acuoso por decocción fue 129.60 ± 8.31 y en el extracto metanólico fue 932.40 ± 71.89 . También en **la tabla 3** se observa que en tallos en el extracto acuoso por infusión fue 208.84 ± 7.85 ; en el extracto acuoso por decocción fue 150.99 ± 12.88 y en el extracto metanólico fue 548.43 ± 19.87 . Así mismo podemos observar en **la tabla 3** que las flores presentan en el extracto acuoso por infusión 226.27 ± 7.53 ; el extracto acuoso por decocción presenta 190.40 ± 2.29 y en el extracto metanólico 956.80 ± 12.91 , demostrando así una amplia actividad antioxidante.

Debido a que no existe estudios en el género *Dalea strobilacea* B. de capacidad antioxidante, estos resultados podemos comparar con un estudio realizado por López A, *et al* ⁽¹¹⁾, Capacidad antioxidante de poblaciones silvestres de “tara” (*Caesalpinia spinosa*) especie de la misma familia de las Fabaceae, en la que se observa mediante el DPPH 1.244 mg/ml y un 35.3% de inhibición.

VI. CONCLUSIONES

1. De lo realizado en el estudio de investigación de la determinación de los fitoconstituyentes cuantificación de polifenoles y efecto antioxidante en dalea nova hierbaichil, se concluye que *Dalea strobilacea* B. hierbaichil posee fitoconstituyentes son: taninos, flavonoides, alcaloides, quinonas, esteroides y leucoantocianidinas.
2. El contenido de polifenoles de los extractos metanólico y acuoso expresados en mg de Catequina Eq /g muestra seca fue en hojas, 77.97 ± 0.90 , Flores: 75.83 ± 1.53 , tallo: 49.58 ± 2.76 , en extracto acuoso por infusión en hojas 47.59 ± 1.07 , flores: 63.29 ± 2.65 , tallo: 44.83 ± 0.92 y en el extracto acuoso por decocción en hojas 52.45 ± 1.40 , flores: 67.44 ± 0.77 , tallo: 59.91 ± 1.08 mg de catequina eq./g de muestra seca
3. La capacidad antioxidante de los extracto metanólico y acuoso expresado en mM de Trolox Eq /g de muestra seca fue en hojas: 932.40 ± 71.89 , flores: 956.80 ± 12.91 y tallo: 548.43 ± 19.87 , extracto acuoso por infusión en hojas: 206.09 ± 2.10 , flores: 226.27 ± 7.53 , tallo: 208.84 ± 7.85 , extracto acuoso por decocción hojas: 129.60 ± 8.31 , flores: 190.40 ± 2.29 , tallo: 150.99 ± 12.88 de mm Trolox Eq./1 g muestra seca.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1._ Quispillo J. “separación, purificación y posible identificación de metabolitos secundarios del Escobillón Rojo (*Callistemon speciosus*)” riobamba –ecuador-2013.[tesis]. Escuela superior politécnica de Chimborazo. Ecuador. 2013. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3097/1/56T00409.pdf>

2._ Gutiérrez M. y Alva S. Fito constituyentes de las hojas de *Psoralea glandulosa* y efecto del infuso sobre la Glicemia en *Rattus rattus* var. *albinus* con hiperglicemia experimental. Rev. Med. Vallejana. 2006: 3 (2); 86-90: disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rmv/v03n2/pdf/a02v03n2.pdf>

3._ Ester M. La Biopeluquería de las Plantas. ¿Que son los "Fitoconstituyentes"? [Internet publicado 06 de mayo 2016]. Disponible en: <http://lapaletadelasplantas.blogspot.pe/2016/05/que-son-los-fitoconstituyentes.html>

4._ Isla M. cuantificación de polifenoles totales en hoja de (*phyllanthus niruri*).[tesis]. Universidad loa Ángeles de Chimbote. Perú 2016. Disponible en: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/383/POLIFENOLES_FOLI N_CIOCALTEU_ISLA_RAMOS_MARIA_ARCELINA.pdf?sequence=1

5._ Ávalos A. Pérez E. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2009; 2 (3): 119-145. Disponible en: http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf

6._ Hanan A. Mondragón J. Fabaceae = Leguminosae en parte bicolor Humb. & Bonpl. ex Willd. Engordacabra. 2009: [internet][consultado octubre del 2016]. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/fabaceae/dalea-bicolor/fichas/ficha.htm>

7._ Belofsky G, Aronica M, Foss E, et al. Antimicrobial and Antiinsectan Phenolic Metabolites of Dalea searlsiae. Journal of Natural Products. 2014;77(5):1140-1149. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4039355/>

8._ Vargas L, et al. Caracterización química por lc-esi-hrms de las raíces de *Lupinus bogotensis* (chocho). Universidad militar nueva granada, Revista facultad de ciencias básicas 2016; 12 (2): 200-211.

9._ Ramírez M, et al. Actividad antioxidante de extractos de hoja de mezquite (*Prosopis velutina*). Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad de Sonora 2019; Biotecnia / XXI (1): 113-119.

10._ Villanueva A J. polifenoles totales en flor de retama *Retama sphaerocarpa* L. (retama) [Tesis]. Universidad católica los ángeles de Chimbote. Chimbote Perú 2016. Disponible en: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/386/POLIFENOLES_FOLI N_CIOCALTEU_VILLANUEVA_ALAYO_JAREK_BRYAN.pdf?sequence=1&isAllowed=y

11.- López A, et al Capacidad antioxidante de poblaciones silvestres de “tara” (*Caesalpinia spinosa*) de las localidades de Picoy y Santa Fe (Provincia de Tarma, departamento de Junín) Universidad Nacional de Trujillo 2011; Scientia Agropecuaria 2 25 – 29. Disponible en: https://sites.google.com/a/unitru.edu.pe/sciagropecu/publicacion/scagropv2n1/scagrop02_25-29

13._ Avilés R, Carrión J, et al. Actividad antioxidante, polifenoles totales y contenido de taninos de extractos de tara, *caesalpinia spinosa* Rev. Per. Quím. Ing. Quím. Vol. 13 N.º 2, 2010. Págs. 05-11 disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/viewFile/4588/3668>

14._ Gutiérrez M. y Alva S. Fito constituyentes de las hojas de *Psoralea glandulosa* y efecto del infuso sobre la Glicemia en *Rattus rattus* var. *albinus* con hiperglicemia experimental. Rev. Med. Vallejana. 2006: 3 (2); 86-90: disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rmv/v03n2/pdf/a02v03n2.pdf>

- 15._ Vázquez O. Aislamiento de metabolitos secundarios de la corteza de *Spondias purpurea* L. [Tesis]. Universidad nacional autónoma de México; México, D.F. 2014. Disponible en: https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis_vazquez_cortes_oscar.pdf
- 16._ Ávalos A. Pérez E. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal.* 2009; 2 (3): 119-145. Disponible en: http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf
- 17._ Bonkanka C. Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal. [Tesis doctoral]. Universidad de la laguna. San Cristóbal España. 2006.
- 18._ Mena L, Tamargo B. Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo). Artículo original; *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 2015;20(1):106-116. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revcubplamed/cpm-2015/cpm151j.pdf>
- 19._ Guerra J. Las saponinas y sapogeninas esteroidales. *Monografias.com.* 2007. [Internet][Consultado noviembre del 2017]Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos55/saponinas-sapogeninas/saponinas-sapogeninas.shtml>

20._ Martínez C. Cano A. plantas medicinales con alcaloides en la provincia de Jaén. Boletín. Instituto de Estudios Giennenses. 2009: (200); 125-163. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3177058.pdf>

21._ Escamilla C. Cuevas E. Guevara J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. 2009: Rev. Fac Med UNAM; 52 (2). 72-75: Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2009/un092g.pdf>

22._ Menéndez C. Efectos vasculares de la quercetina y la catequina: interacciones y papel de los procesos de conjugación y desconjugación metabólica. [Tesis doctoral]. Universidad complutense de Madrid; Madrid España, 2012. Disponible en: <http://eprints.ucm.es/16238/1/T33896.pdf>

23._ Martínez S. González J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. 2002: Nutr. Hosp. 17 (6) 271-278 disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>

24._ Barrón R. García M. flavonoides y actividad antioxidante de calia secundifl ora (Ort.) Yakovlev. Rev. Fitotec. Mex. 2011; 34 (3): 151 – 157. Disponible en: <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/34-3/1a.pdf>

25._ Serra S. Desarrollo de derivados de 4-hidroxycumarina con diferente actividad farmacológica. [Tesis]. Universidad degli studi di Cagliari. Cagliari. Italia. 2010. Disponible en: http://veprints.unica.it/689/1/PhD_Serra_Silvia.pdf

26._ Gonzales A. Jorge Z. síntesis de cumarinas III. Reagrupamiento de claisen de la 4-Alil-oxi-cumaria y de la 4-(3',3'-Dimetil –alil-oxi9-cumarina. Instituto universitario de química orgánica universidad de la laguna tenrife – España. España 1982. (79): 199 – 201. Disponible en: digital.csic.es/bitstream/10261/23831/1/ANQ-1983-79-199.pdf

27._ Peña C. caracterización y estudio de la reactividad de extractos tánicos condensados e hidrolizables, análisis de las propiedades físico-químicas y mecánicas de resinas fenólicas de tipo novolaca modificadas con dichos extractos. [Tesis doctoral]. Escuela universitaria politécnica. Donostia – san Sebastián. 2007. Disponible en: <https://addi.ehu.es/bitstream/10810/12441/1/Pe%C3%B1aRodriguez.pdf>

28._ Maldonado O, Jiménez E, et al, Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. Rev Med UV, Julio - Diciembre 2010; disponible en: https://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf

29._Venereo J. daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes, Instituto Superior de Medicina Militar. Rev Cubana Med Milit 2002;31(2):126-33; http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol31_2_02/MIL09202.pdf

30._Velázquez M, Prieto B, Contreras R. El envejecimiento y los radicales libres Universidad Nacional Autónoma de México. Ciencias 75; 36-42. México 2004. [En línea][Consultado junio del 2018] Disponible en: <http://www.ejournal.unam.mx/cns/no75/CNS07505.pdf>

31._Paredes F, Roca J. Influencia de los radicales libres en el envejecimiento celular. Offarm; 7 (21):96-100; 2002. [En línea][Consultado junio del 2018]; Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-influencia-los-radicales-libres-el-13034834>

32._Céspedes E, Rodríguez K, un acercamiento a la teoría de los radicales libres y el estrés oxidativo en el envejecimiento. 2000. Rev Cubana Invest Biomed; 19(3):186-90. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol19_3_00/ibi07300.pdf

33._Sánchez M. Antioxidantes Consumo de Antioxidantes Naturales en Adultos Mayores de entre 65 y 75 años con Dislipidemia. [Tesis]. Universidad Abierta Interamericana. Julio 2013; disponible en: <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112550.pdf>

34._Núñez A. Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: Revista Cubana de Salud Pública 2011;37(Supl):644-660; disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rcsp/v37s5/spu13511.pdf>

35._De la Peña A, Redondo P. Radicales libres y mecanismos antioxidantes. Generalidades y aplicaciones en la práctica clínica. Departamento de Medicina Interna. Clínica. Universitaria de Navarra. Pamplona. Revista_Clínica_Española_1997; disponible en: https://dadun.unav.edu/bitstream/10171/35637/1/Revista_CI%C3%ADnica_Espa%C3%B1ola_1997_197%286%29_434-46.pdf

36._Sánchez M. Antioxidantes Consumo de Antioxidantes Naturales en Adultos Mayores de entre 65 y 75 años con Dislipidemia. [Tesis]. Universidad Abierta Interamericana. Julio 2013; disponible en: <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112550.pdf>

37._ Barneby, R. C. Daleae imagines, an illustrated revision of Errazurizia Phil., Psorothamnus Rydb., Marina Liebm. Dalea Lucanus emend. Barneby, including all species of Leguminosae tribe Amorphaeae ever referred to Dalea Mem. New York Bot. 1977: 27:555. Disponible en: <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?312110>

38._ Woytkowski Feliks killa jacha la luna silvestre de Shismay: Dalea longispicata (Ulbr.) Shismay Huánuco Perú. 2014; [internet][consultado octubre de 2016] Disponible en: <http://shismay.blogspot.pe/2014/08/killajacha-la-luna-silvestre-de.html?view=sidebar>

39._ Hanan A. Mondragón J. Fabaceae = Leguminosae en parte bicolor Humb. & Bonpl. ex Willd. Engordacabra. 2009; [internet][consultado octubre del 2016]. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/fabaceae/dalea-bicolor/fichas/ficha.htm>

40._ Gold K. León P. propagación de especies amenazada en la flora chilena para su conservación ex situ. Fichas Especies – Banco Base de Semillas – INIA Chile. 2008; [internet][consultado octubre del 2016]. Disponible en: <http://www.inia.cl/recursosgeneticos/bancobase/propagacion/sp/dalea.htm>

41._ García G. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana Dalea bicolor Humb. & Bonpl. ex Willd. 2009; [internet][consultado octubre de 2016] Disponible en: http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Cabeza_de_rat%C3%B3n&id=7032

42._ Ugaz O. Investigación fotoquímica. Capítulo IV, Métodos en el Estudio de Productos Naturales. Pontífice universidad católica del Perú. Lima 1994.

43._ Tedeschi P., Maietti A. et al. Un antico alimento funzionale: l'ortica. Nutraceutica [Internet]. 2018 [Citado: 01 abril 2018]. (1): 46-54. Disponible en: <https://www.natural1.it/nutraceutica/item/2082-un-antico-alimento-funzionale-lortica>

44._ Gutiérrez 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

45._ Kuskoski M. Agustín A, Troncoso A; Mancini-Filho J; Fett Roseane. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Rev. Soc. Quím. Perú [en línea]. 2005, [citado 27 de abril de 2016]; 25, (4), 726-732. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>

46._ Ganoza M. et al. Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de extractos de especies vegetales de cachicadán, la libertad-Perú. Rev. Perspectiva, Universidad Nacional de Trujillo 2015 (16) 1-2; disponible en: <http://revistas.upagu.edu.pe/index.php/PE/article/view/386>

47._ Garrido G, et al. Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. Phil. Universidad Católica del Norte, Angamos 0610, Antofagasta, Chile. 3013 1(1), 30-38; disponible en: http://jppres.com/jppres/pdf/vol1/1_1_30.pdf

48._ Melgarejo S. uso de residuos sólidos de la industrialización del camu camu (*myrciaria dubia* h.b.k. mc vaugh) para la extracción de compuestos fenólicos” [Tesis]. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima - Perú 2018; disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3154/Q04-M444-T.pdf?sequence=6&isAllowed=y>

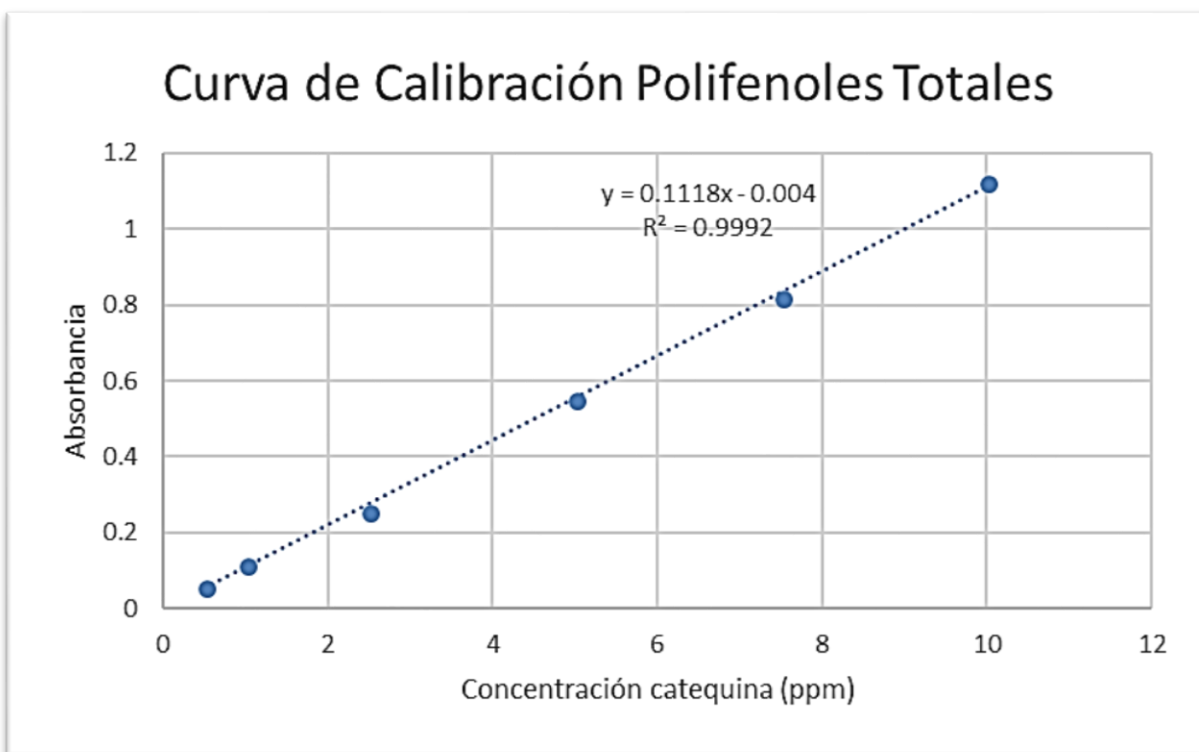
49._ Alvis A, Arrazola G y Martínez W. Evaluación de la Actividad y el Potencial Antioxidante de Extractos Hidro-Alcohólicos de Cúrcuma (*Cúrcuma longa*). Información Tecnológica, 2012. 23, N° 2, pp. 11-18. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642012000200003

50._ Minaya G y Gonzales J. Compendio de la normativa ética para uso por los comités de ética de la investigación. Ministerio de salud. Instituto nacional de salud. Lima – Perú. 2011.

ANEXOS:

ANEXO 01

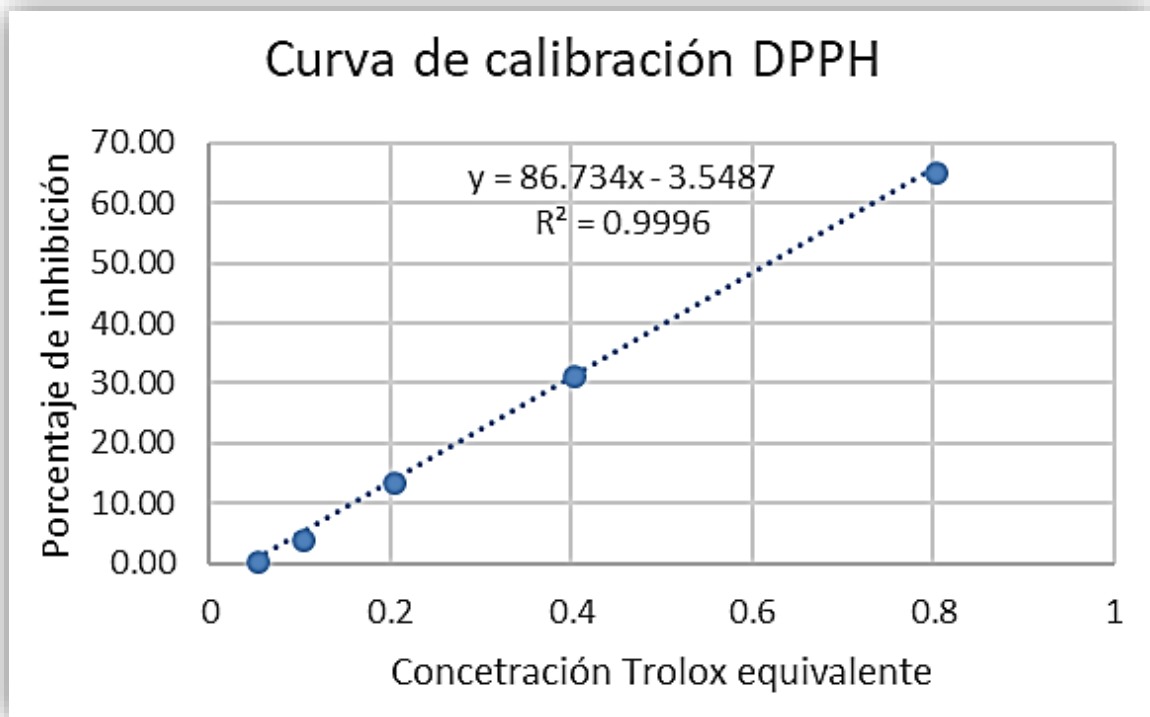
Gráfico 1: Curva de calibración de polifenoles totales utilizando catequinas como estándar.



Fuente: datos convenientes de la investigación

ANEXO 2

Gráfico 2: curva de calibración (o estándar) del trolox como estándar de la actividad antioxidante



Absorbancia vs concentración del Trolox equivalente

ANEXO 3

RECOLECCION DE LA PLANTA



PROCESO DE SECADO: en la estufa como también a temperatura ambiente.



ANEXO 4

PREPARACIÓN DE EXTRACTOS:

EXTRACCIÓN HIDROALCOHOLICA POR REFLUJO:



FRACCIONAMIENTO:

FRACCION A:



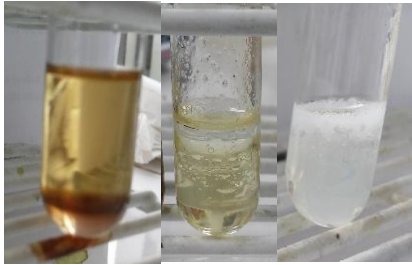
FRACCION B:



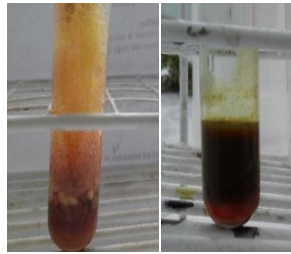
FRACCION C:



FRACION D:



FRACION E:



FRACCION F



EXTRACTO METANOLICO



PREPARACION DEL EXTRACTO DE INFUCION Y DECOCCION

