



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES
EN HOJA DE *Pulmonaria officinalis***

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

AUTOR:

SOLIS CANO MARIA ELENA

ASESOR:

Mgr. Q.F. LIZ ZEVALLOS ESCOBAR

CHIMBOTE – PERÚ

2016

TÍTULO

**CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES EN
HOJA DE *Pulmonaria officinalis***

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

A DIOS todo poderoso por haberme regalado la oportunidad de realizar esta tesis para poder obtener mi título profesional como Químico Farmacéutico.

A mi maravillosa Madre Ana María por todo su esfuerzo y apoyo incondicional en momentos más difíciles, que dejando las cosas de ella a un lado solo por apoyarme a terminar mi carrera profesional y tener éxito en la vida, solo ruego al DIOS todo poderoso que me lo cuide e ilumine su camino.

A mi padre José Emilio por su apoyo desde lejos y gracias por ser como eres, ya que eso me sirvió para ser valiente en la vida

A lado de mis hijos Emiliano y Dylan por su sacrificio de a veces no estar con ellos y compartir las cosas maravillosas que da la vida pero que serán recompensados algún día, gracias por ser los dos mi motor de vida para seguir cumpliendo mis meta profesional

A mis hermanos Sonia, José Luis por todo su apoyo no tanto solo a mí sino también con mis hijos, los aprecio mucho y que sean muy bendecidos.

A mi tutora Liz Zevallos Escobar por todo su conocimiento y apoyo en la elaboración de mi tesis y de manera personal también muy agradecida y que DIOS la cuide e ilumine a toda su familia.

A la universidad ULADECH por abrirme las puertas y cogerme en su escuela de Farmacia y bioquímica y mis maestros por compartir todo sus conocimientos brindados de la manera más humilde.

DEDICATORIA

DIOS todo poderoso que me compartió su sabiduría para poder culminar mi tesis y así obtener, mi título profesional como Químico Farmacéutico

A mi madre querida ANA MARIA que fue la persona más fiel que estuvo a mi lado apoyarme incansablemente y solo ruego al todopoderoso que ella este siempre este a mi lado

A mi padre JOSE EMILIO que desde lejos estuvo apoyándome para culminar mis estudios

A mis hijos MATHIAS EMILIANO, y DYLAN VALENTINO mis dos grandes tesoros que el DIOS poderoso me regalo para cuidarlos, darles mucho amor y que hagan de mi vida la madre más feliz del mundo.

A mis hermanos, JOSE LUIS y SONIA por su apoyo incondicional

A mi asesora Mg Qf Liz Zevallos Escobar por su tiempo dedicado y sus conocimientos compartidos Asia mí y sus buenos consejos para la culminación de mi tesis.

RESUMEN

Los compuestos fenólicos son responsables del buen funcionamiento de las plantas y su relación con el hombre, 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. El presente estudio determinó el contenido de compuestos fenólicos en hoja de *Pulmonaria officinalis*, utilizando técnicas espectrofotométricas. El contenido de compuestos fenólicos totales usando el método Folin- Ciocalteu fue de 24,89 mg ácido gálico /g de hoja seca, los cuales pueden estar estrechamente relacionados con las propiedades farmacológicas y medicinales que se le atribuyen a esta planta.

Palabras clave: polifenoles, Folin-Ciocalteu, pulmonaria officinalis

ABSTRACT

Phenolic compounds are responsible for the proper functioning of the plants and their relationship with man, by exhibiting a range of beneficial health qualities , be included among the natural products with valuable applications in traditional medicine . This study determined the content of phenolic compounds in *Pulmonaria officinalis* leaf , using spectrophotometric techniques . The content of total phenolic compounds using the Folin Ciocalteu method was 24.89 mg gallic / g of dry leaf acid, which may be closely related to the pharmacological and medicinal properties attributed to this plant

Keywords: polyphenols, Folin-Ciocalteu, lungwort officinalis

ÍNDICE

	Pág.
AGRADECIMIENTO	iv
DEDICATORIA	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Antecedentes	4
2.1. Bases teóricas	5
III. METODOLOGÍA	10
3.1 Tipo y diseño de investigación	10
3.2 Población y muestra	11
3.3 Definición y operacionalización de variables	11
3.4 Técnicas e instrumentos	11
3.5 Plan de análisis	13
3.6. Consideraciones éticas	13
IV. RESULTADOS	14
4.1 Resultados	14
4.2 Análisis de resultados	16
V. CONCLUSIONES Y RECOMEDACIONES	18
5.1 Conclusiones	18
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
ANEXOS	25

ÍNDICE DE GRÁFICOS Y TABLAS

ÍNDICE DE TABLAS

GRÁFICO 1: Curva de calibración de polifenoles totales utilizando ácido gálico como estándar.pág. 14

TABLA 1: Contenido de polifenoles totales en hoja de *Pulmonaria officinalis*.....pág. 15

I. INTRODUCCIÓN:

Las plantas medicinales constituyen una fuente de investigación, muchas aún desconocidas y en otras no se ha encontrado explicación a sus propiedades curativas, son un recurso nacional de bajo costo que están consideradas en la Política Nacional de Salud. En el Perú, 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)**.

Las plantas nos ofrecen una oportunidad insuperable para el descubrimiento de nuevos compuestos naturales con diversas actividades **(3)**.

La investigación en 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 **(4, 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 **(8)**.

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. **(9)**.

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 **(10)**.

La pulmonaria (*Pulmonaria officinalis*) está indicada en el tratamiento de problemas respiratorios, especialmente en casos de tos. Debe su nombre a que los antiguos romanos creían que algunos extractos de estas plantas, especialmente de las raíces, eran adecuados para combatir enfermedades del pulmón. Además, en la edad media, se prescribía con ese fin debido a que sus hojas tenían forma de pulmón **(11)**.

P. officinalis rica en compuestos fenólicos y tiene marcada actividad antioxidante, sin embargo, no hay estudios suficientes que demuestren su actividad antitusiva y su efectividad en el tratamiento de problemas respiratorios. Su uso como astringente se debe a su contenido de taninos, mismos que tienen la capacidad de precipitar proteínas y favorecer la cicatrización; tal vez de ahí su indicación en hemorragias pulmonares. Los mucílagos que contiene, pueden actuar sobre mucosas disminuyendo su irritación y el silicio puede facilitar la reconstrucción de tejido conectivo dañado en los pulmones **(12)**.

Este interés ha hecho necesario el desarrollo de nuevos procedimientos analíticos capaz de manejar matrices más complejas 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 se puede determinar en hoja de *Pulmonaria officinalis*?

El estudio está orientado específicamente:

Objetivo general:

Determinar la cantidad de polifenoles totales en hoja de *Pulmonaria officinalis*.

Objetivos específicos:

1. Establecer la curva de calibración del ácido gálico (AG) como patrón de los polifenoles.
2. Determinar la cantidad de polifenoles en hoja de *Pulmonaria officinalis* expresados en mg de ácido gálico (AG)/ g de hoja seca.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes

Un estudio (13) en Bulgaria, muestra a 21 extractos de plantas utilizadas en fitoterapia búlgara para el tratamiento de enfermedades respiratorias, gastrointestinales y otros trastornos inflamatorios se seleccionaron in vitro para el contenido de la actividad y compuestos fenólicos antioxidante. El contenido de fenoles totales se determinó espectrométricamente de acuerdo con el procedimiento de Folin-Ciocalteu y se calculó como equivalentes de quercetina (QE). Siete plantas medicinales búlgaras estaban con alto contenido en compuestos fenólicos y antioxidantes entre ellas *Pulmonaria officinalis* L. (Boraginaceae) (TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) 2,02 +/- 0,14 mm / QE(quercetina) 673,39 +/- 9,92 microM), Por lo tanto, las hierbas de Bulgaria pueden ser considerados como una fuente rica de antioxidantes solubles en agua y / o compuestos fenólicos.

En Cuba (14) se realizó un estudio que describe comportamiento de varias plantas entre ellas pulmonaria se observó que presenta actividad inflamatoria ya que en su composición se reportan gran cantidad de taninos y otros compuestos polifenolicos en menor cantidad.

Otro estudio (12) menciona que *pulmonaria officinalis* está indicada en el tratamiento de problemas respiratorio en casos de tos le atribuye concentraciones altas de taninos, también se encontró concentraciones de saponinas que unidos a la concentración de taninos tiene actividad astringente

En 2016, (15) en Rumania se realizó un estudio que evalúa la actividad antioxidante de la Pulmonaria officinales, donde realizan una evaluación de contenido polifenólicos en un extracto acuoso encontrando la cantidad 486 ugGAE/mL y en extracto etanólico 573ugGAE /mL considerándose como cantidades significativas para la actividad antioxidante ya que su potencial de inhibidor de la enzima acetilcolinesterasa y tirosinasa es baja.

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 (16).

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 **(18)**.

Algunos polifenoles son específicos de determinados alimentos (flavanonas 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. **(17, 18)**.

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 (19, 20).

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 (19).

La actividad antioxidante de los fenoles es el origen de funciones biológicas tales como la antimutagénica, anticancerígena y antienvjecimiento (21).

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 (22).

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, ciclooxigenasa, lipoxigenasa) y acción antiinflamatoria (23).

CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

TÉCNICA DE FOLIN-CIOCALTEU (FC)

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 Folin-Ciocalteu, 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_4 , este compuesto puede ser identificado y cuantificado por espectroscopía de UV/VIS debido a que absorbe a una longitud de onda 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 FC con respecto a productos alimenticios como es el caso del vino rojo y blanco, tés y jugos (23).

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 *Pulmonaria officinalis*, se obtuvieron de una zona de la sierra central de la provincia de Tarma ubicado en el departamento de Junín.

Muestra vegetal: Se emplearon aproximadamente 1Kg de las hojas de *Pulmonaria officinalis*, 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 *Pulmonaria officinalis*

3.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
Cantidad de Polifenoles en hoja de <i>P. officinalis</i>	Cantidad de plifenoles totales expresados en mg x gr. De muestra	La cantidad de polifenoles totales se determinó mediante el método de Folin Cicalteau y a través del espectrofotómetro.	mg de ácido gálico/ g de muestra seca.

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

El presente estudio desarrolló los siguientes procedimientos para resolver nuestra pregunta de investigación.

Obtención del extracto hidroalcohólico

El estudio se realizó con las hojas de la planta, en óptimo estado de desarrollo vegetativo y fitosanitario. Estas 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 25 μ L 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 Acido Galico/ g muestra seca y su desviación estándar. El gráfico muestra la curva de calibración del estándar.

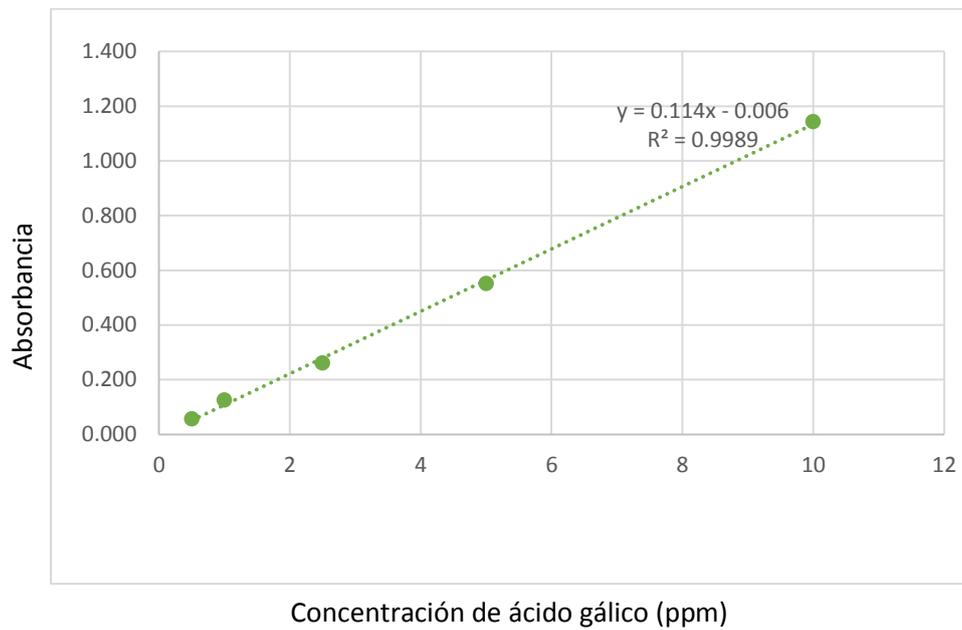
3.6. Consideraciones éticas

Se promueve la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso del *Pulmonaria officinalis* 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 expresado en ácido gálico por gramo de hoja Pulmonaria officinalis

Pulmonaria (<i>nombre científico</i>)	<i>mg ácido gálico/g de hoja seca</i>
M1	23,16
M2	26,20
M3	25,30
Promedio	24,89
Desviación estándar	± 1,56

M= muestra

Fuente: Datos propios 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 (23).

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 (24).

La curva de calibración para el presente estudio se presenta en el gráfico 1, tiene un coeficiente de determinación 0.9989, 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 de *Pulmonaria officinalis* tiene 24,89.mg / g hoja seca, considerándose como una cantidad moderadamente significativa.

Si bien no existe una categorización 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 equivalente en ácido gálico/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).

Otros estudios han demostrado la presencia de polifenoles totales en la especie estudiada, sin embargo también, estos mismos estudios refieren a presencia en mayor cantidad de taninos, que se relaciona con las propiedades farmacológicas y medicinales que se le atribuye (12- 15).

V. CONCLUSIONES

1. Las hoja de *Pulmonaria officinalis* analizadas poseen un contenido de polifenoles totales moderadamente significativo, que podría estar relacionad con las propiedades farmacológicas y medicinales que se le atribuye
2. La curva de calibración en relación al ácido gálico presenta un coeficiente de determinación de 0.9989
3. Las hoja *Pulmonaria officinalis* contienen polifenoles totales expresados en ácido gálico correspondiente a $24,89 \pm 1,56$ mg de ácido gálico/ g hoja seca.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. OMS. Pautas generales para las metodologías de investigación y evaluación de la Medicina Tradicional. Disponible en: <http://www.who.int/medicines/library/trm/whoedm-trm-2000-1/whoedm-trm-2000-pdf> Consultado en enero 2016.
2. 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>
3. 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
4. Maureen A. y Prieto E. Plantas que contienen polifenoles. Antioxidantes dentro del estilo de vida. Rev Cubana Invest Biomed 1999; 18(1):12-4. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol18_1_99/ibi04199.pdf
5. Gutiérrez A. Vino, polifenoles y protección a la salud. Revista Cubana Aliment Nutr 2002; 16(2):134-41. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol16_2_02/ali07202.pdf

6. 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>
7. Ares G, Barreiro C, y Gámbaro A. Evaluacion de extractos antioxidantes de plantas nativas uruguayas: importancia de las características sensoriales. CyTA – Journal of Food. 2010; 8(3): 201-207. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/19476330903353536>
8. Quiñones, M. y Aleixandre A. Actividad biológica de los compuestos fenólico (efectos en la salud). Nutr Hosp. 2012; 27(1):76-89 . ISSN 0212-1611 · CODEN NUHOEQ S.V.R. 318
9. Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. Am J Clin Nutr 2004; 79: 727-747.
10. 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.
11. Simeon F. Researches on the knowledge and capitalization of medicinal and aromatics plants of the upper basin of someșul mic. [Ph.D Tesis]. University of agricultural sciences and veterinary medicine. Napoca. Rumanía; 2012. Disponible en: <http://www.usamvcluj.ro/files/teze/en/2012/florian.pdf>

12. Flores J. Plantas medicinales comercializadas en el “mercado república” de la ciudad de Sn Luis Potosí. [Tesis diplomado]: México; 2011. Disponible en: http://www.tlahui.com/medic/medic33/Plantas_SLP_Leonardo_Flores_R.pdf
13. Ivanova D1, Gerova D, Chervenkov T, Yankova T. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. J Ethnopharmacol; 2005 Jan 4;96(1-2):145-50. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15588663>
14. García L, Rojo D, García L. y Hernández M. Plantas con propiedades antiinflamatorias. Rev Cubana Invest Biomed 2002;21(3):214-6. Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/plantas_con_propiedades_antiinflamatorias.pdf
15. A. Scalbert, C. Manach, C. Morand, Dietary polyphenols and the prevention of diseases, Critical Reviews in Food Science and Nutrition; 2005; 45: 297-306
16. F.S. Martínez, G.J. González, J.M. Culebras, M.J. Tuñón, Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes, Nutrición Hospitalaria; 2002: 17 (6):271-278.
17. 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.

18. Perez-Vizcaino F, Duarte J, Jimenez R, Santos-Buelga C, Osuna A. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. *Pharmacol Rep.* 2009; 61: 67-75.
19. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 1998; 56: 317-333.
20. 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 Physiol Endocrinol Metab.* 2007; 292: E1378-E1387.
21. 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.
22. Roginsky V., Lissi E.A.. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chem;* 2005, 92, 235-254
23. Martínez J. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *Heliocarpus terebinthinaceus*. [Tesis] Universidad tecnológica de la Mixteca. México; 2007. Disponible en: http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10150.pdf
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

ANEXO



