

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

VICERRECTORADO DE INVESTIGACION

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES DE LAS HOJAS *Artemisia annua L.* (*Artemisia*,
ajenjo chino, ajenjo dulce)**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL GRADO
ACADÉMICO DE BACHILLER EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

AUTOR:

Guillén Morales Mónica Marilu

ASESOR:

Mgr. Liz Elva Zevallos Escobar

CHIMBOTE, PERU

2018

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES DE LAS HOJAS *Artemisia annua* L. (*Artemisia*,
ajenjo chino, ajenjo dulce)**

JURADO EVALUADOR DE TRABAJO DE INVESTIGACION

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

PRESIDENTE

Mgtr. Teodoro Walter Ramírez Romero

MIEMBRO

Mgtr. Edison Vásquez Corales

MIEMBRO

Mgtr. Liz Elva Zevallos Escobar

ASESOR

AGRADECIMIENTO

Agradezco infinitamente a Dios por darme la bendición de poder terminar el presente informe de investigación para grado de BACHILLER en Farmacia y Bioquímica, carrera profesional que escogí, también gracias por haberme puesto en el camino personas que me ayudaron en cada momento de este trayecto.

Mis más sinceros agradecimientos a mis padres que me formaron con fe y amor, por su sacrificio y su apoyo emocional que me sirvió de sostén durante estos años de estudios, gracias por todo lo compartido, por nuestras tristezas y alegrías por ayudarme a salir adelante en momentos de adversidad, gracias por sus enseñanzas que me ayudaron a convertir mis debilidades en fortalezas, gracias por su muy buen ejemplo de amor hacia el prójimo que me convirtió en una persona con valores dispuesta a ayudar a los demás.

Gracias a mis hermanas por su amor, cariño y comprensión, por sacarme miles de sonrisas que me motivaron a perseverar en momentos de aflicción. Gracias por su ejemplo de humildad y perseverancia, por ser mis cómplices de aventuras, por hacer que cada día sea lleno de bendiciones.

Quiero expresar también agradecimiento a mis profesores por su aporte académico durante estos años que enriquecieron mis conocimientos y me formaron para poder ser una buena profesional. También gracias por su paciencia su disponibilidad y la guía brindada en el desarrollo del trabajo de investigación presente.

Gracias a mis amigos que durante todos estos años han influenciado positivamente en mi persona, gracias por haber compartido muchas experiencias, por haberme permitido ser parte de sus vidas, por su amor, por sus alegrías y por su apoyo en momentos de aflicción, gracias por sus enseñanzas, gracias por haberse convertido en una parte fundamental de mi vida.

RESUMEN

Actualmente se conocen distintas plantas que se les relaciona con la prevención y tratamiento de diversas enfermedades provocadas por un efecto nocivo de radicales libres ya que estas plantas contienen distintos tipos de antioxidantes. **Objetivos.**- El objetivo del presente estudio fue determinar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles en hojas de *Artemisia annua L.* (ajenjo chino, ajenjo duce). **Metodología.** Para determinar la capacidad antioxidante se utilizó el método del DPPH teniendo como patrón Trolox y para la determinación del contenido de polifenoles se utilizó la técnica de Folin Ciocalteu teniendo como patrón catequina, a partir de diferentes extractos: extracto acuoso por infusión, y extracto metanólico por extracción exhaustiva con metanol 80%. **Resultados.** El contenido de polifenoles en el extracto metanólico fue de 20.59 ± 3.57 mg de catequina eq/g de muestra seca y en infusión fue 7.46 ± 1.26 mg de catequina eq/g de muestra seca, del mismo modo para la capacidad antioxidante en el extracto metanólico el resultado fue de 99.06 ± 0.11 mM Trolox eq / g de muestra seca y en infusión fue de 122.07 ± 1.28 mM Trolox eq / g de muestra seca. **Conclusión:** Se concluye que las hojas de *Artemisia annua L.* presenta capacidad antioxidante y contenido de polifenoles.

Palabras clave: *Artemisia annua L.*, antioxidante, DPPH , polifenoles

ABSTRACT

Currently, different plants are known that are related to the treatment of diseases caused by a harmful effect of free radicals since these plants contain different types of antioxidants. **Objectives.-** The objective of the present study was to evaluate the antioxidant capacity and the content of phenolic compounds of the leaves of *Artemisia annua L.* (wormwood, wormwood duce). **Methodology.** For determine the antioxidant capacity the DPPH method was used and for the evaluation of the concentration of total polyphenols the Folin Ciocalteu technique was used, from different extracts: extract by infusion, and hydroalcoholic extract by exhaustive extraction with methanol 80 %. **Results** The content of polyphenols in the methanolic extract was 20.59 ± 3.57 mg of catechin eq / g of dry sample and in infusion was 7.46 ± 1.26 mg of catechin eq / g of dry sample, in the same way for the antioxidant capacity in the methanolic extract the result was 99.06 ± 0.11 mM Trolox eq / g dry sample and infusion was 122.07 ± 1.28 mM Trolox eq / g dry sample. **Conclusion:** it was possible to determine the antioxidant capacity and total polyphenol content in the leaves of *Artemisia annua L.*

Keywords.- Antioxidant capacity, Free radicals, *Artemisia annua L.*, free radicals, DPPH, polyphenols

INDICE

	Pág.
JURADO EVALUADOR DE TESIS.....	3
AGRADECIMIENTO.....	4
RESUMEN.....	5
ABSTRACT.....	6
INDICE DE CONTENIDOS	7
INDICE DE TABLAS.....	8
I. INTRODUCCIÓN.....	9
II. REVISION DE LITERATURA.....	12
2.1. Antecedentes.....	12
2.2. Bases teóricas.....	15
III. HIPÓTESIS.....	23
IV. METODOLOGIA.....	23
4.1. Diseño de la investigación.....	23
4.2. Población y muestra.....	25
4.3. Definición y operacionalización de variables.....	26
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	27
4.5. Plan de análisis.....	27
4.6. Matriz de consistencia.....	28
4.7. Principios éticos.....	29
V. RESULTADOS.....	30
5.1. Resultados.....	30
5.2. Análisis de resultado.....	31
VI. CONCLUSION.....	30
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	36
ANEXOS.....	43

INDICE DE TABLAS

TABLA 1: Contenido de polifenoles en el extracto metanólico y extracto acuoso sometido a infusión de las hojas de *Artemisia annua L.*

TABLA 2: Capacidad antioxidante de las hojas de *Artemisia annua* sometidos a extracción metanólica y extracto acuoso por infusión.

1.- INTRODUCCIÓN:

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce el importante rol de las plantas medicinales en la atención de la salud de las poblaciones es por ello que recomienda su uso a nivel mundial. Además la OMS estimó que varias poblaciones no cuentan con medicamentos esenciales, mayormente en los lugares de extrema pobreza, siendo la medicina tradicional la alternativa principal para mejorar el estado de salud ¹.

En el Perú la riqueza de plantas medicinales es muy extensa ya que existen más de 4400 especies usadas por distintas poblaciones desde tiempos ancestrales hasta la actualidad donde la mayoría pertenece a la región andina y amazónica ⁽²⁾. Asimismo, para un uso racional de plantas medicinales es de gran importancia conocer sus diferentes características, formas de preparación y dosificación. Es por ello que el estudio científico de las plantas medicinales a través de la investigación etnobotánica, etnofarmacológica y otras áreas permiten evaluar las diferentes propiedades que tienen con la finalidad de tratar distintas enfermedades que afectan a la población y así poder contribuir en la conservación de estos conocimientos tradicionales³.

En los últimos años se ha dado enfoque al estudio del estrés celular y de los radicales libres en el campo de la medicina, con el fin de conocer a profundidad sobre este desequilibrio entre la producción y eliminación de estas especies reactivas y mejorar la calidad de vida del ser humano. El estrés celular se da a causa de la disminución de antioxidantes y/o aumento en la producción de especies reactivas teniendo como consecuencia numerosas patologías; gástricas, cardíacas, respiratorias, óseas, multiorgánicas, entre otras ⁴.

Diversos estudios de nutrición humana, demuestran relación entre el consumo de frutas y verduras y las menores probabilidades de adquirir enfermedades crónicas degenerativas, esto se debe a la presencia de vitaminas, fibras, antioxidantes naturales y minerales ⁵.

Muchas poblaciones del Perú informan la importancia que tiene el uso de plantas medicinales en sus vidas es por ello que el estudio de las plantas se convierte en una necesidad para proteger la salud de las comunidades ya que muchas de ellas carecen de recursos económicos que puedan sustentar los altos gastos en medicamentos o debido al poco acceso a centros de salud o farmacias en su comunidad.

A través de la etnobotánica se lleva a cabo el estudio de las especies vegetales y su relación con la humanidad reconociendo los usos populares y su aplicación en la salud como medicina tradicional previniendo, diagnosticando y tratando las enfermedades ². Es por ello que la etnobotánica y otras áreas similares tienen como finalidad conservar y dar validez a los dichos populares o saberes empíricos de diversas poblaciones a través de procedimientos científicos para la obtención de resultados que permitan reconocer las propiedades de las especies vegetales que son conocidas tradicionalmente con el objetivo de contribuir en el cuidado y conservación de la naturaleza.

La *Artemisia annua* L. ha sido utilizada durante muchos años en la medicina tradicional china. En los años setenta un equipo de investigación en China extrajo la Artemisinina, el principio activo de la *Artemisia annua* L convirtiéndose en el tema central para la lucha contra la malaria ⁶.

La *artemisia annua* L. además de poseer propiedades para el tratamiento para la malaria también posee otras propiedades farmacológicas utilizadas tradicionalmente que aún no

son comprobadas científicamente y su estudio beneficiarían a muchas poblaciones que no cuentan con medios económicos para sustentar los costosos tratamientos para sus enfermedades es por ello que estos estudios mejorarían la calidad de vida y la salud de muchas comunidades.

Por tales razones el estudio a realizar en la hojas de *Artemisia annua* será de gran aporte para la comunidad ya que se evaluara la capacidad antioxidante que poseen sus hojas según los dichos tradicionales, por lo tanto la investigación dará validez a su uso tradicional promoviendo el cuidado de esta especie y la aplicación que se le puede dar para el tratamiento de las diversas enfermedades crónico-degenerativas que afectan actualmente a distintas comunidades a nivel mundial.

1.1 Objetivo general:

Determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en hojas de *Artemisia annua l.*

1.2 Objetivos Específicos :

- Determinar el contenido de polifenoles totales de las hojas de *Artemisia annua l.* expresado en mg de catequina eq./g muestra seca
- Determinar la capacidad antioxidante de las hojas *Artemisia annua l.* expresado en mM de Trolox eq. /g muestra seca

2. REVISION DE LA LITERATURA.

2.1 Antecedentes de la *Artemisia annua* L.(*Artemisia*)

Faveri F⁷ et al en su investigación realizada en el año 2014 tuvo como objetivo principal evidenciar la actividad anticonceptiva de las lactonas sesquiterpénicas de la *Artemisia annua* L. donde promovió una alta actividad anticonceptiva en el modelo de flick de cola sugiriendo relación con el sistema opioide.

Gouveia C⁸ et al, realizaron una investigación el año 2013 en lo que demuestran el efecto antioxidante del aceite esencial y de extractos de acetona de la *Artemisia annua* L. La capacidad antioxidante de aceites esenciales y extractos se midió por tres diferentes ensayos in vitro. Para los aceites esenciales, se encontró una muy buena respuesta antioxidante y los extractos mostraron también una buena capacidad antioxidante, en particular como depuradores antiradicales.

Chenfeima⁹ et al, realizaron una investigación en el año 2011 en lo que demuestran la actividad antimalarica de la *Artemisia annua* L. Se investigó la eficacia y seguridad de las preparaciones tradicionales de té de *Artemisia annua* L. en el tratamiento de la malaria no complicada. El tratamiento resultó en una rápida resolución de la parasitemia y de los síntomas clínicos. Después de 7 d de medicación, las tasas de curación fueron en promedio el 74% para las preparaciones de *Artemisia* en comparación con el 91% para la quinina. Sin embargo, las tasas de recrudescencia fueron altas en los grupos de *Artemisia*. Por lo tanto, la monoterapia con *Artemisia annua* L. no puede recomendarse como alternativa a los antimaláricos modernos, pero puede merecer mayor investigación.

Chiung K¹⁰ et al¹⁰ en su investigación realizada en el año 1992 tuvieron como objetivo evaluar Actividad antipalúdica de los flavonoides de *Artemisia annua L.* de plantas enteras Y cultivos celulares. Se comprobó que los cultivos en suspensión celular desarrollados a partir de *Artemisia annua L.* exhibió actividad antipalúdica contra Plasmodium falciparum in vitro, tanto en el extracto de n-hexano. Por lo tanto se compró su actividad antipalúdica de falvonoides en cultivos celulares.

Wan⁽¹¹⁾ et al¹¹ realizaron una investigación en el año 2001 teniendo como objetivo el estudio Antinflamatoria, antioxidante y antimicrobiana de los extractos de artemisia annua L derivada de extractos de agua, metanol, etanol o acetona de *Artemisia annua L.* Este estudio mostró que los extractos de *Artemisia annua L.* contienen sustancias antiinflamatorias, antioxidantes y antimicrobianas y deben ser considerados para uso en productos farmacéuticos para el tratamiento de enfermedades dentales.

Mesa L¹² et al, realizaron una investigación en el año 2017 teniendo como objetivo demostrar la Actividad antileishmaniasis cutánea in vitro e in vivo de polvo de hojas de *Artemisia annua L.* y su potencial utilidad en el tratamiento de la leishmaniosis cutánea no complicada en seres humanos. La investigación determinó que las cápsulas de *Artemisia annua* mostraron actividad in vitro moderada en amastigotes de *Leishmania* además también se observó citotoxicidad en los macrófagos U-937 o genotoxicidad en linfocitos humanos tampoco se mostraron Reacciones adversas en los pacientes. Ambos pacientes permanecieron libres de enfermedad 26 y 24 meses después de la terminación del tratamiento.

Urtecho¹³ et al, realizó en el 2011 un estudio de investigación cuya finalidad fue extraer e identificar metabolitos secundarios y cuantificar flavonoides expresados como quercetina y taninos en las hojas de *Artemisia Absinthium L.* “ajenjo, en los cuales se pudo determinar la presencia de taninos, flavonoides, esteroides, antraquinonas, cumarinas, alcaloides, sesquiterpenlactonas y absintina en las hojas de *Artemisia absinthium* .

Alvarez L.¹⁴ et al, Se realizó un estudio para determinar la actividad antiparasitaria del Ajenjo (*Artemisia absinthium L.*) en niños haciendo un estudio antes y después del tratamiento y establecer la efectividad antiparasitaria del Ajenjo (*Artemisia absinthium L.*) sobre determinados grupos de parásitos a través de infusiones de ajenjo a diferentes concentraciones. Una vez aplicado el tratamiento de infusiones de las hojas del Ajenjo (*Artemisia absinthium L.*), se determinó que la prevalencia parasitaria de los diferentes niños que participaron en el presente estudio ha disminuido. Por tanto dicha planta presenta una actividad antiparasitaria debido a unos de sus componentes activos.

2.2 Bases teóricas de la investigación

2.2.1 Ubicación taxonómica

Subreino : Plantae

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Artemisia*

Especie: *Artemisia annua* L

.2.2.2 Características

2.2.2.1 FAMILIA ASTERACEAE:

Las asteráceas son la familia de plantas con flores con mayor número de especies, distribuidas en casi toda la superficie terrestre, a excepción de los mares y la Antártida, con aproximadamente 1600 géneros y 24000 especies. Las especies de esta familia están adaptadas a vivir desde el nivel del mar hasta altitudes altas, límite de la vegetación, son diversas en las regiones templadas y disminuyen en los bosques tropicales ¹⁵

2.2.2.2 GENERO ARTEMISIA:

La Artemisia annua L. destaca entre este grupo de familias (Asteraceae) perteneciendo al género artemisia. El género Artemisia incluye un gran número de especies, aproximadamente 400, la mayoría de los representantes son hierbas o

arbustos aromáticos que Alcanza alturas desde 30 a 250 cm en dependencia de la línea o variedad, la región de crecimiento y de algunos factores agronómicos, particularmente, la densidad de población. Esta planta exhibe una característica arquitectura foliar en forma de torre, con tallos cilíndricos de 0,2 a 0,6 cm de diámetros y ramas de 30 a 80 cm de longitud que muestran hojas pinnatífidas, glabras, con segmentos lineales y dentados, cubiertas de pelos glandulares densos por ambos lados. Las hojas y la inflorescencia presentan tricomas glandulares con alto contenido de aceite volátil, que le proporciona especial fragancia y sabor ligeramente amargo ⁴.

Artemisia annua L. tiene abundantes y densas raíces laterales que le permiten gran adaptabilidad y capacidad contra la sequía y el anegamiento; a pesar de ello el riego de este cultivo para el mantenimiento de la humedad adecuada es importante, ya sea mediante siembra directa o de trasplante. En muchas situaciones como es el período de germinación y la fase preliminar de crecimiento, es necesaria la irrigación frecuente y ligera para su establecimiento seguro; la frecuencia de esta aplicación dependerá mucho del tipo de suelo y del clima, luego de la aparición de la sexta hoja no requiere de mucho riego ¹⁶.

2.2.2.3 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA:

Se encuentra en una gran variedad de países mayormente en zonas templadas y tropicales del mundo. Se le cultiva en las partes sur y este de Europa, en países como Hungría, Bulgaria, Rumania, Francia, Holanda, Suiza; norte, centro y este de Asia,

en Tailandia, Burma, Malasia, Madagascar; en Australia; en América del Norte, en EE. UU. y en Sudamérica en Argentina y Brasil. También en países del norte de África, Kenya, Uganda, Tanzania y República Democrática del Congo, Además se encuentra en pequeñas áreas experimentales en la India; aunque para su uso industrial ha sido recolectada fundamentalmente de fuentes silvestres ⁴.

2.2.2.4 PROPIEDADES

Diversos estudios clínicos realizados en Asia, donde existen mayor número de resistencias a los antipalúdicos, han demostrado que los derivados de la artemisina (sustancia derivada de la *Artemisia annua L.*), son antipalúdicos muy poderosos y efectivos, tanto para el tratamiento de las formas no complicadas de la enfermedad, como del paludismo severo. En diferentes estudios, el 90% de los enfermos tratados por estos derivados, la fiebre y la parasitemia desaparecieron en 4 a 8 horas ¹⁷.

Además se hace alusión a que la artemisinina, ,aniquila de modo directo los parásitos de la malaria mediante un mecanismo que aunque aún no está claro, sí se conoce que su efecto es mayor que el de la quinina, así como que este compuesto y sus derivados son potentes y efectivas drogas para el tratamiento de todos los tipos de malaria, especialmente la malaria cerebral y se han usado como agentes en el tratamiento de schistosomiasis, cáncer, leucemia y arritmia, sin que se hayan observado efectos adversos en los pacientes tratados, aun cuando se ha mostrado que causa neurotoxicidad en altas dosis en algunos animales de experimentación Se reconoce que las partes aéreas de esta planta tienen propiedades antibacteriana, antiséptica,

febrífuga, antiinflamatoria y las semillas son usadas en el tratamiento de flatulencias como carminativa y digestiva; los estudios indican que la artemisinina que contiene puede matar además de los protozoarios causantes de la malaria a otros parásitos y bacterias, lo que apoya su uso tradicional para el tratamiento de parásitos gastrointestinales y la diarrea infecciosa ^{4,18}

También se realizaron estudios científicos en donde se determinó la actividad antioxidante de sus aceites esenciales, a la vez tiene propiedades anticonceptivas y para el tratamiento de antileishmaniasis cutánea ^{13,12}.

2.2.3. RADICALES LIBRES:

Los radicales libres son átomos que tienen un electrón desapareado por lo que buscan robar un electrón a la molécula estable, con la finalidad de establecerse electrónicamente. Además presentan las características de ser orgánicas e inorgánicas, y se pueden formar en la atmósfera por radiación. Cuando el radical *libre logra sustraer el electrón que necesita para su estabilidad electroquímica, la molécula a la cual se ha extraído el electrón se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, en consecuencia de este proceso se da inicio de una reacción en cadena que destruye nuestras células*^{19, 20}.

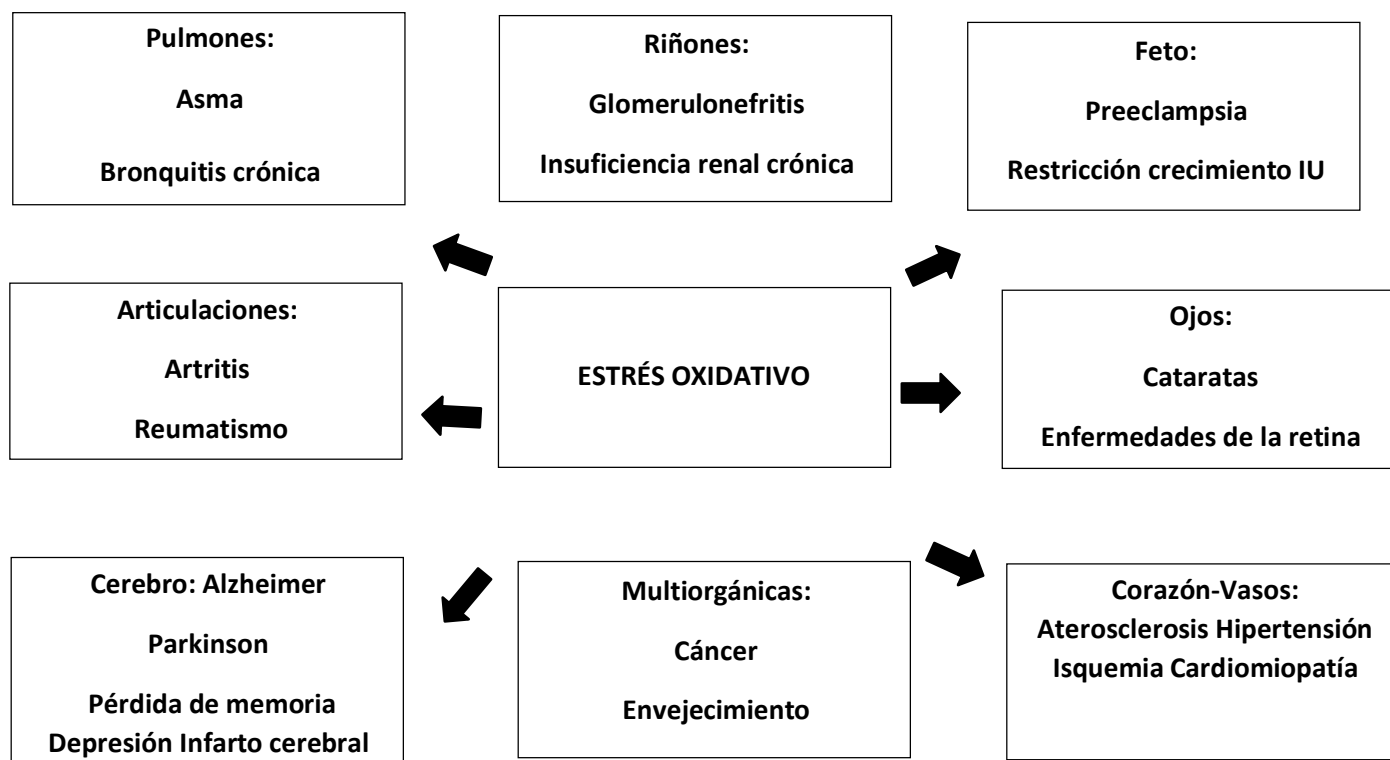
Aunque los radicales son de vida muy corta aproximadamente un duración de microsegundos, estos son altamente reactivos por lo que tienen la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a millones de

moléculas y a membranas celulares. Estos son intrínsecamente deletéreos. Nuestro propio organismo produce estos radicales libres pero en cantidades moderadas con el objetivo de que puedan luchar contra bacterias y virus. Los radicales libres que son producidos por el cuerpo para desempeñar diversas funciones de defensa son neutralizados fácilmente por nuestro propio sistema a través de enzimas (como la catalasa o la dismutasa) que son las encargadas de cumplir esta función de neutralización ²¹.

2.2.4 DAÑO O ESTRÉS OXIDATIVO:

El cuerpo humano mantiene un balance de óxido-reducción constante, considerando un equilibrio en la producción de pro-oxidantes que se generan a partir de diversos procesos fisiológicos que se dan en el organismo. El estrés oxidativo se da cuando hay un desequilibrio en este balance de óxido-reducción teniendo como consecuencia un aumento de radicales libres y especies reactivas, que no alcanza a ser compensado por los niveles de defensa antioxidantes llevándose a cabo daño y muerte celular. Esto ocurre en patologías degenerativas, de tipo infeccioso, inmune, inflamatorio²².

Todos los tejidos y enfermedades se han implicado en el daño producido por el estrés oxidativo: ²³



Fuente: Presuntos órganos afectados por “estrés oxidativo” y patologías relacionadas.

Algunas enfermedades asociadas al estrés oxidativo

Diabetes mellitus: A causa de los altos niveles de glucosa que se presentan en la diabetes se lleva a cabo diversas reacciones no enzimáticas de proteínas. Las concentraciones altas de glucosa, típicas de estados diabéticos, la producción de radicales libres de oxígeno se incrementa en presencia de metales de transición. El aumento de estrés oxidativo en diabéticos, no se debe solo a la aceleración en la producción de radicales libres de oxígeno, sino también por la disminución de niveles de antioxidantes. Las altas concentraciones de glicemia conducen a un estrés oxidativo.

Esto se debe a que la glucosa se autooxida y por ello se da la formación de alfacetoaldehídos, peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y radical superóxido (O₂), entre otras especies reactivas del oxígeno ²⁴.

Hipertensión arterial: La hipertensión arterial abarca un conjunto de resultados sistémicos, causados por los radicales libres de oxígeno. En la hipertensión arterial se produce un aumento de la peroxidación de lípidos, tanto en plasma como en las membranas celulares, además presenta un aumento en las concentraciones lipídicas totales y una disminución de la capacidad antioxidante ²⁴.

2.2.5 ANTIOXIDANTES:

Los antioxidantes son fuertes agentes reductores y esto se debe a sus propiedades de óxido reducción que poseen sus grupos hidroxilo y a sus relaciones estructurales entre diferentes partes de su estructura química. El cuerpo emplea antioxidantes para reducir la concentración de radicales libres en nuestro organismo y el daño que estos pueden causar. Los antioxidantes donan electrones a estos radicales y así logran estabilizar los átomos que han estado intentado encontrar una pareja para su electrón desaparejado. Los antioxidantes cumplen funciones protectoras al reducir la producción o neutralizando los radicales libres obtenidos durante los distintos procesos fisiológicos como la respiración o digestión ^{19, 25}.

Los antioxidantes pueden actuar disminuyendo la concentración de oxidantes, también actúan evitando la iniciación de la reacción en cadena al detener una reactividad química muy alta evitando la formación de los primeros radicales libres, además pueden unirse a iones metálicos para evitar la formación de especies reactivas,

también los antioxidantes pueden actuar Transformando los peróxidos en productos menos reactivos y así detiene la propagación y el aumento de radicales libres ²⁶.

2.2.6. FUNDAMENTO DE MÉTODO DPPH

El fundamento del método por DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) es un radical que tiene un electrón desapareado dando una coloración azul-violeta, que al reaccionar con una sustancia antioxidante se decolora hacia amarillo pálido, siendo medida espectrofotométricamente a 517 nm. Por diferencia de absorbancia se determina el porcentaje de captación de radical libre DPPH a una concentración²⁷

2.2.7. FOLIN CIOCALTEU

El método de Folin-Ciocalteu se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que al reaccionar con cualquier tipo de fenol se da la formación de 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 ²⁸

III. HIPOTESIS

Diferentes tipos de extractos de las hojas de *Artemisia annua L.* (artemisia, ajeno) presenta capacidad antioxidante y contenido de polifenoles

IV. METODOLOGIA

4.1. Diseño de la investigación

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

4.1.1 Obtención de la droga vegetal

En la realización de este estudio se utilizaron hojas de la planta *Artemisi Annuu L.*, las cuales después de ser recolectadas se deshojaron para posteriormente ser secadas en estufa a 45° C durante 4 horas, luego se procederá a realizar la pulverización para finalmente ser almacenadas a 4° C hasta el momento de su utilización.

4.1.2 Preparación del extracto metanólico - MeOH 80% (Extracción exhaustiva)

Para el procedimiento de extracción exhaustiva de polifenoles se hace uso de la muestra seca y triturada, pesando 0.25001 g., a esta muestra se le añade 15mL de metanol al 80% más ácido fólico al 10% para luego colocarlas sobre el agitador magnético durante media hora cubriendo todo el recipiente donde se coloca el tubo con una capa de aluminio y posteriormente centrifugar a 6000 RPM (revoluciones por minuto) durante 5min. a 4° C, una vez obtenida la muestra se retira el

sobrenadando y se sitúa en una fiola de 50mL realizando el mismo procedimiento por tres veces seguidas y al final aforando con metanol al 80%. Para concluir con la extracción se envuelve la fiola con una capa de aluminio con su respectiva rotulación y se almacena en congelador hasta su correspondiente análisis.

4.1.3 Preparación de la muestra seca en infusión

En un vaso de precipitación de 250 mL. se añadió 200 mL de agua tipo 2 se llevó a calor hasta su ebullición luego se retira y se agregó 1.24 gramos de muestra posteriormente se cubrió con papel aluminio y se deja en reposo durante 5 minutos, luego se deja enfriar para su posterior análisis.

4.1.4 Determinación de polifenoles totales mediante el método de Folin –

Ciocalteu:

Se utiliza una fiola de 10mL con agua 2.5 mL de H₂O, después se añadió el estándar de catequina a concentraciones de 0,5; 1; 2,5; 5 y 10ppm (mg/L) y así obtener la curva de calibración. Posteriormente se añade a las demás fiolas 100 µL de muestra del extracto metanólico al 80%, 100 µL de infusión y 500 µL Folin – Ciocalteu, el cual se lleva a incubación cubriéndolo de la luz durante 5min. Luego se agrega 2 Ml de carbonato al 10% determinado como el blanco aforando la fiola con H₂O Tipo 2 y se coloca nuevamente a incubación por un periodo de 90 minutos. Para terminar con este procedimiento se ejecuta la lectura en el espectrofotómetro ÚNICO 2800 UV/VIS a una longitud de onda de 700 Nm.

4.1.5. Preparación del DPPH:

Se preparó 100 ml del reactivo con metanol, para ello se utilizó 2.3mg de polvo de DPPH se convirtió a gramos y se obtuvo 0.023 gr y se aforó con metanol en la fiola de 100ml, para tenerlo 0.06Mm.

4.1.6 Determinación de la capacidad antioxidante según el método de DPPH:

Para determinar la actividad antioxidante se añadió 1450 µL de DPPH a 0.06 mM metanólico en una cubeta de espectrofotómetro, la cual se llevó a leer en el UV/VIS a una longitud de onda de 515 Nm para conseguir una absorbancia a tiempo cero (DPPH t0), después se añadió en una cubeta 50 µL de muestra de hojas y se dejó reposar durante 15 minutos y así llevarse a cabo una reacción a través de una decoloración. Pasado el tiempo se lee nuevamente la absorbancia a tiempo 15 (DPPH t15), realizando las mediciones por triplicado.

Como estándar se utilizó el Trolox a concentraciones de 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 Mm, para obtener la curva de calibración.

Para determinar el % de inhibición se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{DPPH t0} - \text{DPPH t15}}{\text{DPPH t0}} \times 100$$

4.2. Población y muestra

Población: Conjunto de hojas de *Artemisia annua L* provenientes distrito de Santa departamento de Ancash.

Muestra: 1Kg de hojas de *Artemisia annua L* en buen estado fitovegetativo

4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
Capacidad antioxidante	Los antioxidantes son fuertes agentes reductores y esto se debe a sus propiedades de óxido reducción	- Tiempo de secuestro de radicales libres, DPPH	mM de Trolox eq/g muestra seca
Contenido de polifenoles	Los polifenoles son un grupo de sustancias químicas que se caracterizan por la presencia de más de un grupo fenol por molécula.	Folin-ciocalteu	Mg de catequina eq/g muestra seca

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

Capacidad de secuestro y/o inhibición de radicales libres se evaluó tomando como dato el tiempo de secuestro y valor de absorbancia medida en el espectrofotómetro y observación directa del registro de las reacciones de coloración y otras características que se observaron en la medición de las concentraciones totales de polifenoles. Los datos obtenidos fueron registrados en fichas de recolección de datos.

4.5 Plan de análisis.

Los resultados se presentaron con datos de medida de tendencia central: promedio, desviación estándar, en Microsoft Excel. Regresión lineal para la calibración del patrón.

4.6 . Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS:	HIPOTESIS	VARIABLES	TIPO DE INVESTIGACIÓN	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	POBLACIÓN Y MUESTRA
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE POLIFENOLES EN HOJAS DE <i>Artemisia annua L.</i>	¿Tendrá capacidad antioxidante y contenido de polifenoles las hojas de <i>Artemisia annua L.</i> ?	<p>4.8.1. Objetivo general Determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en las hojas de <i>Artemisia annua L.</i></p> <p>4.8.2. Objetivos específicos Determinar el contenido de polifenoles totales de las hojas de <i>Artemisia annua l</i> expresado en mg de catequina eq./g muestra seca</p> <p>Determinar la capacidad antioxidante de las hojas <i>Artemisia annua l.</i> expresado en Mm de Trolox eq. /g muestra seca</p>	Diferentes tipos de extractos de las hojas de <i>Artemisia annua L.</i> (artemisi ajeno) presenta capacidad antioxidante y contenido de polifenoles	Capacidad antioxidante Contenido de Polifenoles	Estudio de tipo descriptivo	<ol style="list-style-type: none"> 1. Obtención de los extracto de las hojas de <i>Artemisia annua L</i> 2. Contenido de polifenoles 3. Determinación de la capacidad antioxidante 	<p>Población vegetal: Conjunto de hojas.</p> <p>Muestra vegetal: Se emplearon aproximadamente 1Kg de las hojas.</p>

4.7 Principios éticos

Teniendo en cuenta la Declaración de Helsinki, se promoverá la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso de plantas medicinales, 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. En el caso del manejo de animales de experimentación se realizará con respeto de su bienestar de acuerdo a los propósitos de la investigación, promoviendo su adecuada utilización y evitándoles sufrimiento innecesario

V.RESULTADOS

5.1 Resultados

TABLA 1: Contenido de polifenoles totales de las hojas de *Artemisia annua L.* equivalentes en mg de catequina / g d muestra seca en extracto metanólico e infusión.

Muestra	Extracto	Polifenoles totales (mg de catequina eq./g de muestra seca)
<i>Artemisia annua L.</i>	Metanolico	20.59 ± 3.57
<i>Artemisia annua L.</i>	Infusión	17.46 ± 1.26

Fuente: Datos propios de la investigación

TABLA 2: Capacidad antioxidante de las hojas de *Artemisia annua L* equivalentes en mM Trolox Eq./1 g muestra seca.en extracto metanólico e infusión.

Muestra	Extracto	DPPH (mM Trolox Eq./1 g muestra seca)
<i>Artemisia annua L.</i>	Metanolico	99.06 ± 0.11
<i>Artemisia annua L.</i>	Infusión	122.07 ± 1.28

Fuente: Datos propios de la investigación

5.2 Análisis de Resultados:

La determinación del contenido de polifenoles de las hojas de *Artemisia annua* L. se llevó a por medio del método de Folin-Ciocalteu que se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno y molibdeno siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula ²⁸

En la tabla 1 se observa el Contenido de polifenoles totales de las hojas de *Artemisia annua* L. en extracto metanólico e infusión .El extracto exhaustivo dio como resultados una media y desviación estándar de 20.59 ± 3.57 mg de catequina eq./g de muestra seca; y a la vez la infusión dio como resultados una media y desviación estándar de 17.46 ± 1.26 mg de catequina eq./g de muestra seca determinados por el método Folin-Ciocalteu . Se observó la variación de coloración de amarillo a una coloración color azul intensa debido al complejo fosfomolibdotúngstico que fue formado por las dos sales en medio basico²⁸ .

Los resultados de esta investigación se comparan al realizado en el año 2015, donde se evaluó el contenido de polifenoles del extracto acuoso de ALTAMISA (*Ambrosia artemisiifolia*). Que también pertenece a la familia de asteráceas. El contenido de

Flavonoides en el extracto acuoso de Altamisa (*Ambrosia artemisiifolia*) oscila entre los 6.625 $\mu\text{g/g}$, siendo los flavonoides un subgrupo de los compuestos fenólicos²⁹.

También se llevó a cabo una investigación en el año 2012 donde se evaluó el contenido de polifenoles de diversos extractos de hojas de *Artemisia annua L.* Se encontraron cantidades significativamente diferentes de compuestos fenólicos en los diversos extractos de hojas de *Artemisia annua L.* que van desde 90.12 ± 2.78 (hexano) a 134.50 ± 4.37 (MeOH). Además se evaluó el rendimiento de la extracción de fenólicos en las hojas de *Artemisia annua L.* con diferentes disolventes utilizados mostrando una fuerte correlación con la polaridad del disolvente utilizado llegando a la conclusión en dicho estudio que para la extracción de compuestos fenólicos en las hojas de *Artemisia annua L.* Los disolventes de alta polaridad son los más adecuados. Se encontró que la eficiencia de diferentes solventes para la extracción de compuestos fenólicos es del orden: MeOH > agua > EtOAc > cloroformo > hexano³⁰.

El DPPH es empleado usualmente como sustrato y se utiliza para evaluar la actividad antioxidante de compuestos de especies que pueden tener capacidad captadora de radicales libres. El método está basado en la reducción de la absorbancia de la solución en metanol de DPPH en la presencia de un antioxidante donador de hidrógeno. Los compuestos fenólicos pueden actuar como donadores de hidrógeno o de electrones en reacciones de este tipo, ya que el radical fenoxilo generado es menos reactivo y se estabiliza por resonancia con los electrones π del anillo aromático la donación del hidrógeno permite la generación de la forma no radicalaria DPPH-H A mayor

capacidad antioxidante del extracto, habrá una mayor pérdida de color, proporcional al grado de captura del radical oxidado²⁷.

En la tabla 2, se observa la determinación de capacidad antioxidante de las hojas de *Artemisia annua* L en extracto exhaustivo e infusión. El extracto exhaustivo dio como resultados una media y desviación estándar de 99.06 ± 0.11 uM de Trolox/g muestra seca y a la vez la infusión dio como resultados una media y desviación estándar de 122.07 ± 1.28 uM de Trolox/g; determinados por el método DPPH.

En cuanto a la capacidad oxidante los resultados de esta investigación se comparan al realizado en el año 2012, donde se evaluó la capacidad antioxidante de extracto metanólico de hojas de *Artemisia annua* L. encontrándose una actividad de reducción de radicales libres determinada por DPPH que varió de 10.72 ± 0.07 uM trolox³⁰.

VI. CONCLUSIONES

- Se determinó el contenido de polifenoles totales de las hojas de *Artemisia annua l.* mediante el método Folin-ciocaltei en extracto exhaustivo, e infusión. Se determinó la capacidad antioxidante de *Artemisia annua l.* mediante el metodo DPPH en extracto exhaustivo e infusión,

- Se determinó el contenido de polifenoles totales de las hojas de *Artemisia annua l* expresado en mg de catequina eq./g muestra seca teniendo como resultados en el extracto exhaustivo una media y desviación estándar de 20.59 ± 3.57 mg de catequina eq./g de muestra seca; y a la vez la infusión dio como resultados una media y desviación estándar de 17.46 ± 1.26 mg de catequina eq./g de muestra seca .

- Determinar la capacidad antioxidante de las hojas *Artemisia annua l.* expresado en mM de Trolox eq. /g muestra seca teniendo como resultados resultado en la muestra obtenido por extracción exhaustiva que fue 99.06 ± 0.11 uM de Trolox/g y a la vez en el extracto acuoso sometido a infusión se obtuvo una concentración de 122.07 ± 1.28 /mM trolox eq. /g de muestra seca.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional. Ginebra: OMS; 2002-2005. Serie de Informes Técnicos: 939
2. Huamantupa I, Cuba M, Urrunaga R , Paz E , Ananya N , Callalli M, et all. Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados de la ciudad del Cusco. Rev. Perú. biol. [Revista en línea]. 2011. [Fecha de consulta: 26 de junio de 2017]; 18(3); Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/download/439/378>
3. Carreño HP. La etnobotánica y su importancia como herramienta para la articulación entre conocimientos ancestrales y científicos [Tesis].Bogotá: Universidad distrital Francisco José de Caldas. Facultad de Ciencias y Educación; 2016.
4. Porras L. López M. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Departamento de ingeniería química y alimentos. [Artículo en línea]. 2009. [Fecha de consulta: 26 de junio de 2017]; 3(1); Disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf)

5. Castañeda C. B. Ramos LL. Ibáñez V. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Rev Horizonte Med. [Revista en línea]. 2008. [Fecha de consulta: 26 de junio de 2017]; 8(1); Disponible en: <http://www.horizontemedicina.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/196>
6. Perdomo J. Medicina tradicional china y el Premio Nobel 2015. Rev Cubana Plant Med [revista en línea]. 2015 Dic [citado 2017 Jul 25]; 20(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962015000400013&Ing=es
7. Faveri F , Grando R , Neonato F, Sousa I , Queiroz N, Longato G ,et al .*Artemisia annua* L. Evidence of sesquiterpene lactones' fraction antinociceptive activity. BioMed Central Ltd. [Serial on the Internet]. 2014. [Cited 2017 jul 07]; 14(266). Disponible en: <https://bmccomplementalrternmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6882-14-266>
8. C S, Gouveia J. *Artemisia annua* L.: Essential oil and acetone extract composition and antioxidant capacity. ScienceDirect. . [Serial on the Internet]. 2013. [Cited 2017 jul 07];45. Disponible en: www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669012006565
- 9..Chenfei M,Huahong W , Xin L..Guowang X , Benye L . Metabolic fingerprinting

investigation of *Artemisia annua* L. in different stages of development by gas chromatography and gas chromatography–mass spectrometry. Science Direct. . [Revista en línea]. 2008. [Fecha de consulta: 26 de junio de 2017]; 1186. Disponible en: www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669012006565

10. Chiung K, Shi-Lin Y, M.R , BC, J D. Antimalarial activity of *Artemisia annua* flavonoids from whole plants and cell cultures. Plant Cell Reports. [Serial on the Internet]. 1992 . [Cited 2017 jul 07]; 11, pp 637–640. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00236389>

11 Wan Ki Woo Ji, Sunwoo L, Woo J, Dong C, U D. Korean J Physiol Pharmacol. [serial on the Internet t]. 2015. [Cited 2017 jul 07]; 19(1); 21–27. Available from: <http://pubmedcentralcanada.ca/pmcc/articles/PMC4297758/>

12. Mesa LE, Vasquez D, Lutgen P, Vélez ID, Restrepo AM, Ortiz . Essential oil and acetone extract composition and antioxidant capacity. In vitro and in vivo antileishmanial activity of *Artemisia annua* L. leaf powder and its potential usefulness in the treatment of uncomplicated cutaneous leishmaniasis in humans. Rev Soc Bras Med Trop. [Serial on the Internet]. 2017. [Cited 2017 jul 07]; 10(3). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28327802>

13. Chonate C; Figueroa V. Identificación de metabolitos secundarios y cuantificación de taninos y flavonoides (quercetina) por espectrofotometría uv - vis en artemisia absinthium l. (asteraceae) “ajenjo” [Tesis]. Trujillo .Universidad Nacional de Trujillo; 2011 <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4471>

14. Alvarez López, Leidy Vanessa ; Quispe, Alfredo . efecto antiparasitario de la infusión de ajenjo (*Artemisia absinthium* L.) en niños de edad escolar [Tesis]. Bolivia . UCEBOL; 2010.

http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/ucs/n3/n3_a07.pdf

15. Beltrán, Hamilton. Las Asteráceas (Compositae) del distrito de Laraos (Yauyos, Lima, Perú). Rev. Perú biol. [Revista en línea]. 2016[citado 2017-07-25] 23(2). Disponible en:

<http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727->

[99332016000200011&script=sci_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727-99332016000200011&script=sci_arttext)

16. Acosta de la Luz Lérica, Castro Armas Ricardo. Cultivo, cosecha y procesamiento poscosecha de *Artemisia annua* L. Rev Cubana Plant Med [revista en línea]. 2010 Jun [citado 2017 Jul 25] ; 15(2) .Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-

[47962010000200009&lng=e](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000200009&lng=e)

17. Guerrero L. *Artemisia Annua*: nuevas Perspectivas en el tratamiento del Paludismo. NATURA MEDICATRIX [artículo en línea]. 2002. [citado 2017 Jul 25]; 20(4).

Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4955916.pdf>

18. Dalrymple D. *Artemisia annua*, Artemisinin, ACTs Y Malaria Control in África . Printed on an Espresso Book Machine .2012.

19. Sánchez M. Antioxidantes: Consumo de antioxidantes naturales en adultos mayores de entre 65 y 75 años con Dislipidemia. [Tesis].Argentina. Universidad abierta Interamericana; 2013.

20. Díaz G. Escobar W. Pizarro E. Estrés Oxidativo. Cuando el equilibrio se pierde. Rev. Revista N°13Motricidad y Persona [Revista en línea]. 2013. [Fecha de consulta: 26 de junio de 2017]; 13; Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4736013>

21. Constanza L. Muñoz M. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. Rev. Scielo Colombia [Revista en línea]. 2012. [Fecha de consulta: 26 de junio de 2017]; 10(18); Disponible: www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf

22. Guerra E. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. An Med Interna [Artículo en línea]. Madrid 2001. [Fecha de consulta: 26 de junio de 2017]; 18(6); Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/download/439/378>

23. Sociedad Española de Bioquímica y Biología. Estrés Oxidativo. Madrid: SEBMM; 2017. n° 193.

24. Díaz G. Escobar W. Pizarro E. Estrés Oxidativo. Cuando el equilibrio se pierde. Rev. Revista N°13Motricidad y Persona [Revista en línea]. 2013. [Fecha de consulta: 26 de

junio de 2017]; 13; Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4736013>

25. Barrera R. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de cuatro frutos de interés comercial en Colombia y actividad citotóxica In vitro en la línea celular de fibrosarcoma HT1080 [Tesis]. Bogotá. Pontificia Universidad Javeriana; 2011.

26. Dorado C. Concepción R, Selva R. Rivas A. Estrés Oxidativo y neurodegeneración. Rev. Fac Med UNAM [Revista en línea]. 2003. [Fecha de consulta: 26 de junio de 2017]; 46 (6); Disponible en: www.ejournal.unam.mx/rfm/no46-6/RFM46606.pdf

27. Ocampo, Diana M, Valverde, Claudia L, Colmenares, Ana J, & Isaza, José H. Fenoles totales y actividad antioxidante en hojas de dos especies colombianas del género *Meriania* (melastomataceae) . Revista colombiana de Química, [Revista en línea] 2014. 43(2), 41-<http://www.scielo.org.co/pdf/rcq/v43n2/v43n2a06.pdf>

28. Gutiérrez D, Ortiz C. García A, Mendoza A. Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. [Artículo en línea]. 2008. [Fecha de consulta: 26 de junio de 2017]; Disponible en: https://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf

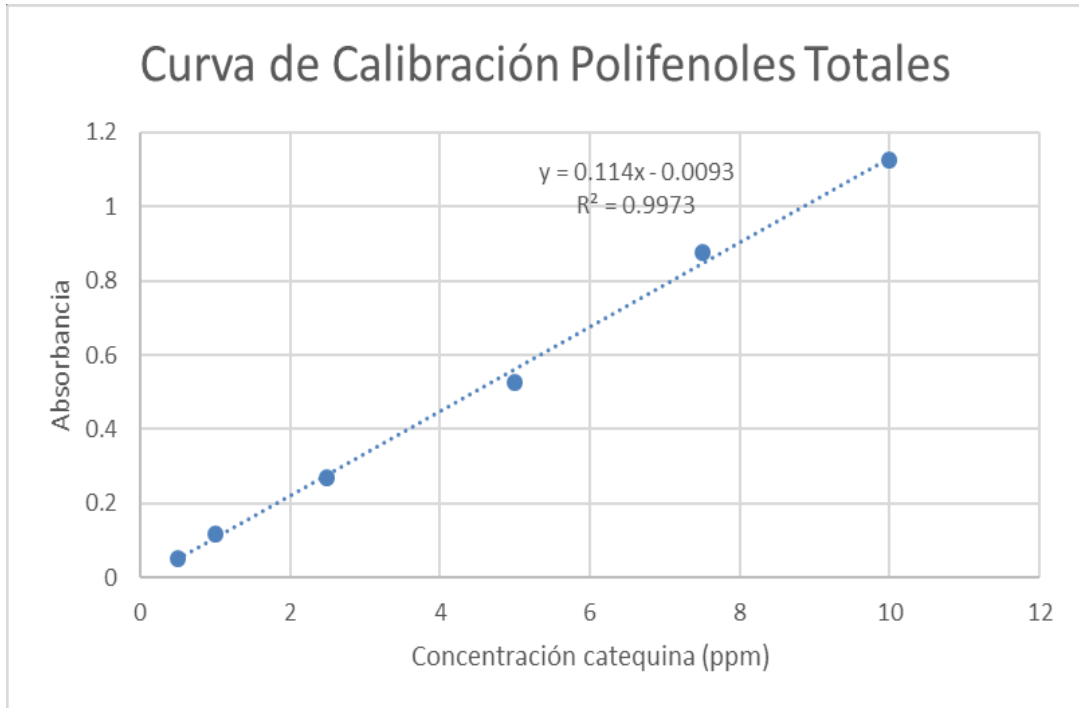
29 . Criollo a. “Determinación cuantitativa de poli fenoles y metabolitos con propiedades antioxidantes en el extracto de altamisa (*Ambrosia artemisiifolia*).”. [Tesis]. Machala – el oro- Ecuador. Disponible en 2015.<http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/3177/1/CD000006-TRABAJO%20COMPLETO.pdf>

30 . Shahid I. Umer Y. Chemical composition of *Artemisia annua* l. leaves and antioxidant potential of extracts as a function of extraction solvents. [Artículo en línea]. 2012. [Fecha de consulta: 26 de junio de 2017]; 17 Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/225054018_Chemical_Composition_of_Artemisia_annua_L_Leaves_and_Antioxidant_Potential_of_Extracts_as_a_Function_of_Extraction_Solvents

Anexos

ANEXO 1:

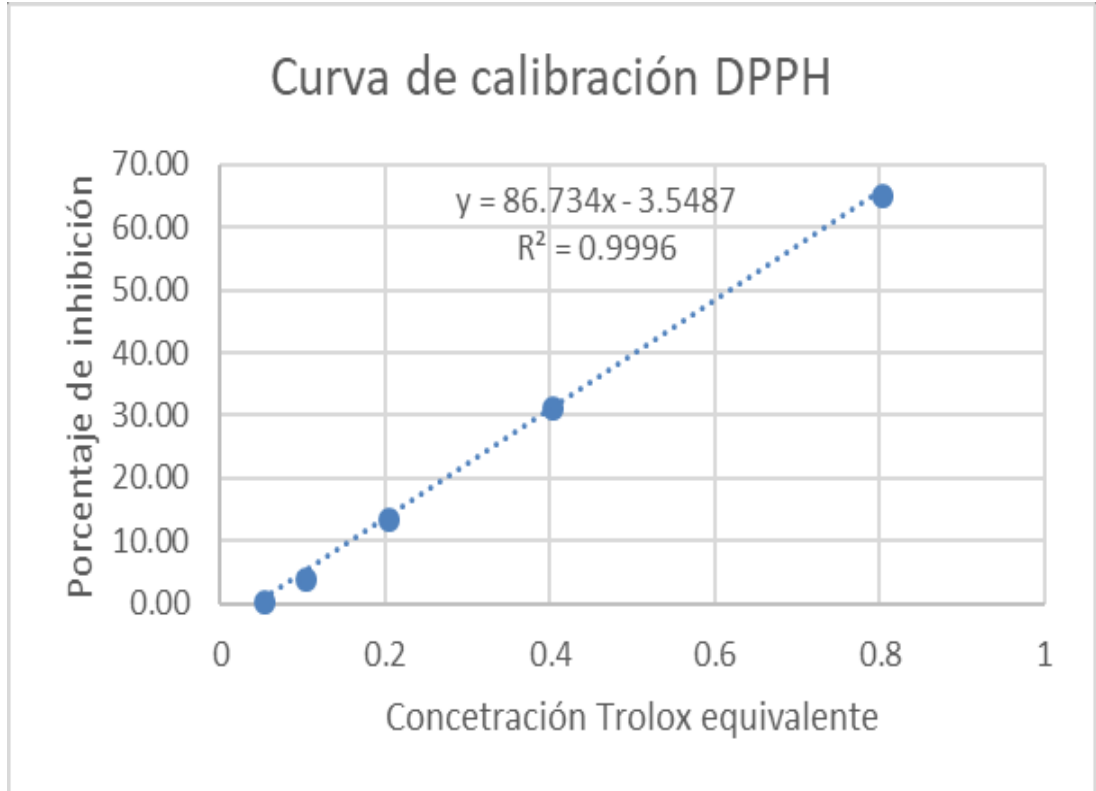
Curva de calibración de polifenoles totales



Fuente: Datos de la investigación

ANEXO 2:

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



Fuente: Datos de la investigación

ANEXO 3



Herbarium Truxillense (HUT)

Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N° 023 – 2018- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Superorden: Asteranae
- Orden: Asterales
- Familia: Asteraceae
- Género: *Artemisia*
- Especie: *A. annua* L.

Muestra alcanzada a este despacho por MÓNICA MARILÚ GUILLÉN MORALES, identificado con DNI N° 71986418, con domicilio legal en Calle Garatea Mz. 62 Lt. 38- Nuevo Chimbote; estudiante de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad Privada Los Ángeles de Chimbote, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: Efecto Antiinflamatorio de las hojas de *Artemisia annua* L. "artemisia".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 23 de abril del 2018



Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT

cc. Herbario HUT

E- mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

ANEXO 4