



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES DE LAS HOJAS Y TALLO DE *Lippia
alba*. (MILL.)N.E.BROWN.(PAMPA ORÉGANO)**

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

AUTOR(A):

Gladys Mercedes Castillo Quiñones

ASESOR(A):

Mgtr. Liz Elva Zevallos Escobar

Chimbote - 2018

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES DE LAS HOJAS Y TALLO DE *Lippia
alba*. (MILL.)N.E.BROWN.(PAMPA ORÉGANO)**

JURADO EVALUADOR DE TRABAJO DE INVESTIGACION

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Teodoro Walter Ramírez Romero

Miembro

Mgtr. Edison Vázquez Corales

Miembro

Mgtr. Liz Elva Zevallos Escobar

Asesor

AGRADECIMIENTO

A Dios por acompañarme y guiarme a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A mis Padres por su apoyo incondicional, a mi Esposo Johny Hernández y mis hijos Jason, Rafael y Carlitos por ser mi impulso, mi motivación a seguir adelante. A mi hermano Fredy mi mellizo por animarme en todo momento a seguir estudiando.

A la Doctora y asesora Liz Elva Zevallos Escobar por su constante apoyo, por su confianza e invaluable colaboración en el logro de este trabajo. Por su entusiasmo y ejemplo para superar los obstáculos que se puedan presentar en nuestro camino hacia el cumplimiento de nuestros objetivos.

A mis familiares, amigas, compañeros y todas las personas que de una u otra manera me mostraron su apoyo y entusiasmo en la culminación de esta tesis.

DEDICATORIA

A DIOS

Por estar a mi lado en cada paso que doy, por su fortaleza constante y permitir culminar mi carrera y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo este Tiempo.

A MI FAMILIA

Por su apoyo, ejemplo de lucha, perseverancia, por sus ánimos y sabios consejos que han sido muy oportunos en mi formación académica

A la Mgr. Liz Elva Zevallos Escobar

Como asesora de esta tesis, quien me ha guiado, orientado, apoyado en la elaboración de este proyecto.

RESUMEN

Las plantas medicinales son fuente de una gran diversidad de compuestos que contienen propiedades antioxidantes, que son de mucha importancia para el ser humano ya que constituyen un elemento protector frente al efecto nocivo de los radicales libres. *Lippia Alba* (Mill.) N.E. Brown (Pampa orégano) es utilizada para curar problemas antiespasmódicos, digestivos, diuréticos, expectorante, sedante, antimicrobiana, antioxidante, anti ulcerosa y anticonvulsivante. **Objetivos:** Determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de las hojas y tallo de *Lippia Alba*. **Metodología:** El estudio es de tipo descriptivo. Para evaluar la concentración de polifenoles se realizó según el método de Folin Ciocalteu utilizando como referencia la catequina y para la capacidad antioxidante se realizó por el método DPPH (2,2, Difenil-1-Picril Hidrácilo) utilizando como estándar de referencia el Trolox. **Resultados:** La cantidad de polifenoles expresados en mg de catequina eq/ g de muestra seca, donde en el extracto metanólico de las hojas se obtuvo 17.36 ± 0.70 , en el extracto metanólico del tallo se observó 15.67 ± 0.65 , en infusión (hojas) se obtuvo 6.11 ± 0.05 , en infusión (tallo) se obtuvo 13.85 ± 0.90 , así también para la determinación de la capacidad antioxidante para el extracto metanólico de las hojas fue 115.56 ± 12.47 , en el extracto metanólico del tallo fue 33.95 ± 1.05 y en infusión (hojas) 137.66 ± 1.42 , infusión (tallo) 112.83 ± 3.11 expresados en mM Trolox eq / g de muestra seca. **Conclusión:** Se determinó la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en hojas y tallo de *Lippia Alba*

Palabras clave: Capacidad antioxidante, Radicales libres, *Lippia alba*, DPPH, Polifenoles.

ABSTRACT

The medicinal plants are source of a great diversity of compounds that contain antioxidant properties, which are of great importance for the human being since they constitute a protective element against the harmful effect of free radicals. *Lippia Alba* (Mill.) N.E. Brown (Pampa oregano) is used to cure antispasmodic, digestive, diuretic, expectorant, sedative, antimicrobial, antioxidant, anti ulcerous and anticonvulsant problems. Objectives: To determine the antioxidant capacity and polyphenol content of the leaves and stem of *Lippia Alba*. Methodology: The study is descriptive. To evaluate the concentration of polyphenols was performed according to the method of Folin Ciocalteu using as a reference the catechin and for the antioxidant capacity was performed by the DPPH method (2,2, Diphenyl-1-Picril Hidrácilo) using Trolox as a reference standard. Results: The amount of polyphenols expressed in mg of catechin eq / g of dry sample, where in the methanolic extract of the leaves 17.36 ± 0.70 was obtained, in the methanol extract of the stem it was observed 15.67 ± 0.65 , in infusion (leaves) obtained 6.11 ± 0.05 , in infusion (stem) 13.85 ± 0.90 was obtained, so also for the determination of the antioxidant capacity for the methanolic extract of the leaves was 115.56 ± 12.47 , in the methanol extract of the stem was 33.95 ± 1.05 and in infusion (leaves) 137.66 ± 1.42 , infusion (stem) 112.83 ± 3.11 expressed in mM Trolox eq / g dry sample. Conclusion: The antioxidant capacity and polyphenol content in leaves and stem of *Lippia Alba* was determined

Key words: Antioxidant capacity, Free radicals, *Lippia alba*, DPPH, Polyphenols.

CONTENIDO

| | |
|---|------------|
| AGRADECIMIENTO..... | iv |
| DEDICATORIA..... | v |
| RESUMEN..... | vi |
| ABSTRACT..... | vii |
| I. INTRODUCCION..... | 1 |
| II. REVISION LITERARIA..... | 5 |
| 2.1 Antecedentes..... | 5 |
| 2.2 Bases teóricas..... | 8 |
| 2.2.1 Plantas medicinales..... | 8 |
| 2.2.1.1 Definición..... | 8 |
| 2.2.1.2 Plantas medicinales en el Perú..... | 9 |
| 2.2.2 Aspectos Botánicos..... | 10 |
| 2.2.3 Stres oxidativo..... | 12 |
| 2.2.4 Antioxidantes..... | 13. |
| 2.2.4.1 Sistema de defensa antioxidante celular..... | 15 |
| 2.2.4.2 Características de las enzimas antioxidantes..... | 18 |
| 2.2.5 Compuestos fenólicos..... | 20. |
| 2.2.6 Radicales libres..... | 21 |
| III. HIPOTESIS..... | 21 |
| IV. METODOLOGIA..... | 22 |
| 4.1 Diseño de la Investigación..... | 22 |
| 4.2 Población y muestra..... | 24 |
| 4.3 Definición y operacionalizacion de variables e indicadores..... | 25 |
| 4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos..... | 26 |
| 4.5 Plan de análisis..... | 26 |
| 4.6 Matriz de consistencia..... | 27. |
| 4.7 Principios éticos..... | 28 |
| V RESULTADOS..... | 29 |
| 5.1 Resultados..... | 30 |
| 5.2 Análisis de resultados..... | 31 |
| VI CONCLUSIONES..... | 34 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS..... | 35 |
| ANEXOS..... | 43 |

INDICE DE TABLAS

TABLA 1.

Contenido de Polifenoles de las hojas y tallo de *Lippia alba* en el extracto metanolico sometido a extracción exhaustiva.

TABLA 2.

Capacidad antioxidante de las hojas y tallo de *Lippia alba* en el extracto metanolico sometido a extracción exhaustiva.

I. INTRODUCCION

La Organización Mundial de la Salud (OMS) asegura que cerca del 80% de la población mundial consume plantas medicinales para satisfacer sus necesidades médicas. Esta práctica está asociada al empirismo en muchos casos, y faltan estudios químicos, clínicos y epidemiológicos que confirmen los efectos fisiológicos de las plantas y los principios activos responsables.¹

El uso de la medicina tradicional en el tratamiento de enfermedades, se practica desde tiempos ancestrales, su uso convence que es una de las mejores opciones siendo de beneficio para las personas y comunidades, caso particular del área rural donde se utiliza este recurso, manteniendo su valor y uso cultural.²

Cuba es uno de los países donde hay más consumo de plantas medicinales, sin embargo, aun mayor parte de la población desconoce sus propiedades, forma de uso, modo de aplicación, así como las contraindicaciones e interacciones con los medicamentos convencionales. En este contexto el adulto mayor juega un rol importante por los conocimientos empíricos y esotéricos adquiridos, además del empleo que hace de estas plantas.³

En Perú la medicina tradicional también está ganando cada vez más respeto por parte de los gobiernos nacionales y los proveedores de servicios de salud. El Programa Nacional de Medicina Complementaria del Perú y la Organización Panamericana de la Salud recientemente compararon la Medicina Complementaria a la medicina alopática en clínicas y hospitales que operan dentro del Sistema de Seguridad Social del Perú (EsSalud / Organización Panamericana de Salud 2000). De acuerdo con la OMS.⁴

Las plantas son ricas en compuestos fenólicos, que poseen propiedades antioxidantes, ya que han sido sugeridas con un papel positivo en el alivio del estrés oxidativo y la prevención de enfermedades mediadas por los radicales libres.⁵

De los diversos estudios que reportan propiedades medicinales, se encuentra la planta de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown; que es un arbusto aromático que pertenece a la familia Verbenácea, originaria de América tropical. Conocida en Colombia como pronto alivio. En dicha planta se encuentra numerosas propiedades medicinales como antiespasmódica, digestiva, diurética, expectorante, laxante, sedante, somnífera, sudorífica, antimicrobiana, antioxidante, anti ulcerosa y anticonvulsivante.⁶

Lippia alba (Mill.) N.E. Brown (Pampa orégano) es una planta aromática cultivada en varias regiones del mundo, cuyo valor comercial se debe a sus características como especie, condimento y propiedades medicinales. De mayor importancia industrial y farmacéutica es su aceite esencial, el cual se emplea como fragancia en jabones, perfumes, cosméticos, saborizantes, entre otros, además, posee propiedades antibacteriales, antifúngicas, antiparasitarias, antimicrobianas y antioxidantes.⁷

En estudios previos sobre la composición de los aceites esenciales de ésta planta se han encontrado al menos tres quimiotipos diferentes, en dos de los cuales los componentes principales son timol y carvacrol y un tercero menos común donde estos compuestos no están presentes o lo están en muy baja cantidad.⁸

Un antioxidante puede determinarse como una sustancia que, cuando se encuentra a baja concentración comparada con la de un sustrato oxidable, previene o retrasa relevantemente la oxidación del sustrato. Además, muchos desordenes de la salud

como cáncer, enfermedad cardiovascular, aterosclerosis, gastritis, daños en el sistema nervioso central y aceleración del envejecimiento, entre otros, son aplicados a la acción de los radicales libres. Los alimentos juegan un papel importante en el control del estrés oxidativo. Una dieta rica en antioxidantes como vitaminas C, E, carotenoides, selenio, zinc y polifenoles reduce la incidencia de cáncer y enfermedades cardiovasculares y degenerativas.⁸

Los polifenoles son un grupo de compuestos con propiedades observadas entre las que se hallan el afianzamiento de radicales libres, inhibición de enzimas hidrolíticas y oxidativas y acción antiinflamatoria. En varios casos se ha precisado que la actividad antioxidante del extracto o del aceite esencial de una planta está vinculada directamente con la cantidad de compuestos fenólicos presentes en ella, uno de tales compuestos es el timol, el cual constituye el componente mayoritario en el aceite esencial del orégano.⁸

Entonces los antioxidantes son sustancias que retardan el proceso oxidativo, cuya actividad podría deberse a sus componentes poli fenólicos.⁹

Los poli fenoles constituyen uno de los principales compuestos con actividad antioxidante, presentes en las plantas y alimentos. Los flavonoides, son un tipo de poli fenoles que se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas y son sustancias que manifiestan una potente actividad antioxidante.¹⁰

Las plantas contienen diferentes sustancias antioxidantes, por lo cual es relativamente difícil determinar la cantidad en la que se encuentra cada una de ellas en la planta.

El estudio acerca de la capacidad antioxidante de las plantas medicinales plantea nuevas expectativas para continuar investigando sobre los beneficios que estas especies estarían aportando a la salud humana. Y debido a la influencia que tienen los radicales libres (RL) como promotores de un gran número de enfermedades y del deterioro de los alimentos grasos que ponen en riesgo la salud de la población humana, por lo tanto el uso de plantas medicinales es la primera opción terapéutica por su fácil disponibilidad, bajos costos y efectividad, por eso la importancia de la presente investigación que estudia la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de las hojas de *Lippia Alba* (Mill). N.E. Brown (Pampa orégano).¹¹

Objetivos de la Investigación.

Objetivo general:

Determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de las hojas y tallos de *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown (Pampa orégano)

II. REVISION LITERARIA

2.1. ANTECEDENTES

Soto et al ¹² propusieron como objetivo evaluar la actividad antioxidante del extracto acuoso de orégano (*Lippia graveolens* HBK) del Norte de México y su efecto tóxico in vitro e in vivo. En el análisis morfológico in vivo con distintas dosis del extracto acuoso de orégano no se observó un efecto toxico.

Vera et al ¹³ en su estudio realizado en el 2003 en Colombia evaluaron el efecto protector del aceite esencial obtenido de tallos y hojas frescas de *L. alba* sobre la toxicidad del mercurocromo en raíces de *A. cepa*. Cuba. El mercurocromo a 10, 250 y 500 μM mostró efecto tóxico sobre las células meristemáticas de *A. cepa*. El aceite a 100 μM , produjo un efecto protector demostrado por la disminución de AC y aumento de la longitud y peso de las raíces expuestas a mercurocromo 10 y 500 μM . Se emplearon plantas superiores (*A. cepa*) como sistema biológico, en las cuales la observación de aberraciones cromosómicas constituye el principal método de análisis.

Pino et al ¹⁴ en sus estudios realizados en Cuba propusieron como objetivo determinar los componentes volátiles del aceite esencial de *Lippia alba*, lográndose identificar 43 compuestos, de los cuales 20 se informan por primera vez. Se encontró un alto contenido de carvona que hace suponer que se está en presencia de un nuevo quimiotipo. Se evaluó la actividad antibacteriana del aceite esencial sobre una bacteria integrada por 9 especies de bacterias. El aceite presentó actividad antibacteriana, siendo mayor en general, sobre los gérmenes Gram positivos, con valores de las concentraciones mínimas inhibitorias entre 0,3 y 0,63 mg/mL.

Naznin A, Hasan N.¹⁵ Presentaron una investigación realizada en el año 2009 para determinar si tiene actividad antioxidante in vitro las hojas y el extracto de flores metanólicas de *Lippia alba*. Así mismo buscaron determinar el poder reductor de los extractos. Los resultados mostraron que los extractos de *Lippia alba* mostraron actividad de barrido de DPPH (1, 1-difenil-2-picril-hidrazil) muy significativa comparada con el antioxidante estándar. La actividad de eliminación del radical DPPH del extracto por lo tanto concluyó que los extractos tienen una fuente potencial de antioxidantes de origen natural.

Oliveira R. et al¹⁶ presentaron una investigación realizada en el 2006 del Estudio etnofarmacológico de dos especies de *Lippia* de Oriximiná, Brasil. Así mismo se investigó la composición química y la actividad antimicrobiana de sus aceites esenciales para correlacionarse con sus usos tradicionales. El estudio etnofarmacológico mostró un buen acuerdo del mayor uso (MUA) de *Lippia alba* (MUA = 92,0%) y en menor medida, por *Lippia alba* f. Intermedia (MUA = 66,7%), como sedantes. Los análisis de los aceites esenciales permitieron la identificación de *Lippia alba* como un quimiotipo mirceno-citral y *Lippia alba* f. Intermedia como un quimio tipo citral.

En Lima-Perú 2014,¹⁷ Oliveira G. exhibió su tesis teniendo como título “Capacidad Antioxidante del Extracto Acuoso de *Averrhoa carambola* L. (carambola) frente a diversos sistemas generadores de radicales libres”. Se elaboraron los extractos acuosos del fruto y hoja frescos de *Averrhoa carambola* L. (Carambola), en los que se determinó cuantitativamente los contenidos de poli fenoles, flavonoides y vitamina C, también se determinaron sus propiedades mediante reacciones con el radical libre estable DPPH*, el TPTZ-Fe+3 y su capacidad para disminuir el

ferrocianuro de potasio. Con respecto a la capacidad de reaccionar con el radical libre estable DPPH*, el IC50 que se adquirió fue menor en la hoja, lo que indica que tiene una mejor actividad frente al DPPH. Los resultados muestran que la hoja tiene una mayor capacidad antioxidante que el fruto de la *Averrhoa carambola* L (carambola).

En Lima-Perú 2017,¹⁸ Ramos I. llevo a cabo su tesis teniendo como título “Capacidad antioxidante in vitro y actividad regeneradora in vivo de una crema cosmética con extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (kunth) MC Vaugh Camu Camu. Mediante el método espectrofotométrico usando el radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), cuantificación de compuestos fenólicos y cuantificación de vitamina C e in vivo mediante evaluación histológica. Los resultados in vitro son de 45,248 mg ácido ascórbico/g extracto y 2,717 mg ácido ascórbico/g crema (VEAC) de capacidad antioxidante equivalente de vitamina C. La concentración inhibitoria media (IC50) fue de 75,9119 para el extracto y 1264,2603 para la crema. La cuantificación de compuestos fenólicos es de 115,540 mg ácido gálico/g extracto y 12,639 mg ácido gálico/g crema. La cuantificación de vitamina C es de 25,166 ácido ascórbico/g extracto y 4,614 mg ácido ascórbico/g crema. Lo que revela que el extracto y la crema tienen actividad antioxidante.

Dávila A. et al,¹⁹ en el año 2014 en Iquitos – Perú presentaron su tesis que lleva como título “Análisis Bromatológico de la carambola (*Averrhoa carambola* L) Camu Camu “*Myrciaria dubia* H.B.K.Me Vaugh” y su capacidad antioxidante” con la finalidad de desarrollar un análisis bromatológico y definir la capacidad antioxidante de las materias primas CARAMBOLA "*Averrhoa carambola* L" y CAMU CAMU "*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh". La selección de la materia prima se realizó con

la intención de obrar con frutos uniformes en tamaño, grado de madurez; expulsando las golpeadas y frutos verdes, se lavó con agua y lejía al 0.01 %, para así quitar todas las partículas extrañas. Se obtuvo una muestra para realizar los análisis fisicoquímicos y microbiológicos. Se aplicó una metodología experimental cuantitativa con un análisis descriptivo en ambas materias primas; que se comparó con referencias bibliográficas, en caso de la Carambola con la publicación de Tello en el 2002 y en el caso de Camu camu con la publicación de Astiazarán en el 2007; encontrándose aproximación en ambos casos.

2.2. BASES TEORICAS

2.2.1. PLANTAS MEDICINALES

2.2.1.1. DEFINICION:

La parte fundamental de la medicina natural es el tratamiento de enfermedades con plantas medicinales, este tipo de tratamiento tiene siglos de experiencia y ha sido la base de la farmacología actual. Una planta medicinal es donde encontramos principios activos con propiedades para tratar alguna afección o dolencia. Este principio activo se puede encontrar en las hojas, flores, tallos, raíz, frutos etc. La parte de la planta empleada en medicina natural puede suministrarse bajo diferentes formas como cápsulas, cremas, tizanas, decocción. jarabe, tintura, unguento, cataplasma, etc.²⁰

2.2.1.2. PLANTAS MEDICINALES EN EL PERU

Las plantas medicinales han acompañado al ser humano desde la más remota antigüedad, no hay cultura que no haya desarrollado su propia flora medicinal, la

cual es generalmente transmitida por tradición oral. Hace unas décadas todavía el reconocimiento de estas plantas era parte del estudio médico y también de amplio conocimiento popular. La creciente urbanización y consiguiente alejamiento de las fuentes silvestres de plantas medicinales ha llevado a un creciente desconocimiento de su presentación natural. A pesar que muchas personas creen poder reconocer una planta medicinal por la forma de sus hojas, su olor u otras características, el reconocimiento específico de una planta solo es posible si se cuenta con sus órganos sexuales, es decir si se cuenta con su flor. Esta florística de las plantas medicinales es poco conocida a pesar que tendría un uso práctico al permitir reconocer con

exactitud que estamos frente a la planta medicinal que buscamos y no frente a otra especie con similares características de sus hojas o tallos.²¹

2.2.2. *Lippia Alba* (Mill.)N.E.Brown.(Pampa orégano)

Lippia alba (Mill) N.E. Brown es una planta medicinal conocida en Colombia como “prontoalivio” y que se utiliza para el tratamiento de diversas dolencias gastrointestinales. El aceite esencial, los extractos acuosos y alcohólicos obtenidos de la planta han demostrado poder antibacteriano, antiviral, antiparasitario y antimicótico.¹¹

Existe una variedad de productos de uso humano que contienen como principio activo componentes tóxicos, tal es el caso del mercurocromo, nombre comercial de la merbromina y usualmente de tinturas hechas con merbromina y alcohol o agua (merbromina 2 %), la cual es una sal disódica órgano-mercúrica fluorescente, empleada en medicina por sus propiedades antisépticas hace más de 60 años. Pocos son los reportes que muestran su toxicidad, existe la necesidad de conocer estos

daños y buscar componentes naturales, como alternativas que los contrarresten. Dentro de la gran variedad de recursos de origen natural y que presenta diversos estudios reportados como propiedades antioxidantes, está el aceite esencial obtenido de la planta *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown; es un arbusto aromático que pertenece a la familia Verbenaceae, originaria de América tropical. Conocida en Colombia como pronto alivio, entre sus numerosas propiedades terapéuticas pueden citarse su utilidad antiespasmódica, carminativa, digestiva, diurética, expectorante, laxante, sedante, somnífera, sudorífica, antimicrobiana, antioxidante, antiulcerosa y anticonvulsivante.²²

.2.2.2.1 TAXONOMÍA

Clasificación botánica

Nombre Botánico:

Nombre Científico:

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Género: *Lippia*

Familia: Verbenaceae

Especie: *alba*

2.2.2.2.Descripción de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown

Lippia alba (Mill.) N.E. Brown es un arbusto aromático que alcanza los 2m de altura. Es erecto, perenne, con hojas pequeñas, opuestas y láminas ovado-oblongas de 2-7cm, pecioladas y sin estípulas. El sistema de ramas es homomórfico, es decir, que no se observa especialización en ramas fértiles y vegetativas. En las nuevas ramas que se originan a partir de las yemas prolepticas, las florescencias se desarrollan silépticamente en su conjunto forman las inflorescencias y cada una de las flores que la conforman producen néctar y polen durante todo el año. *Lippia alba* también es conocida como: Prontoalivio (Colombia), erva cidreira (Brasil), cidrón (Venezuela), juanilama (Costa Rica) y quitadolor (Centroamérica).¹⁸

2.2.2.3. Habitud

Es originaria del bosque seco tropical y subtropical americano. En Colombia, país donde se realizó esta investigación, se encuentra distribuida en casi todo el territorio hasta los 1800m de altitud y con mayor presencia en las regiones del Valle del Cauca, Bolívar, Amazonas, Guajira, Magdalena, Atlántico, Cundinamarca, Meta y Quindío.

Se puede encontrar en climas cálido húmedo, cálido seco y templado. Se desarrolla en regiones sin exceso de calor o frío, con temperaturas de hasta 32°C con alta intensidad lumínica. Debido a su rusticidad, responde a diversos tipos de suelos como arcillosos y limosos con pH de 5 a 6. La familia a la cual pertenece

(Verbenaceae), incluye cerca de 98 géneros con aproximadamente 2 500 táxones específicos.²²

2.2.2.4. Toxicidad

En un estudio realizado por Soto¹⁸ et al, se propusieron como objetivo evaluar la actividad antioxidante del extracto acuoso de orégano (*Lippia graveolens* HBK) del Norte de México y su efecto tóxico in vitro e in vivo. La capacidad antioxidante del extracto acuoso se midió por el método de DPPH en seis diluciones del extracto (5-160 mg/mL) y se utilizó Trolox como referencia; para el efecto tóxico in vitro se usó el ensayo de citotoxicidad con larvas de *Artemia salina*. En el análisis morfológico in vivo con distintas dosis del extracto acuoso de orégano no se observó un efecto toxico.

2.2.3. ESTRES OXIDATIVO:

El oxígeno es una molécula indispensable para la vida, pero por su alta reactividad es un elemento tóxico que al existir una perturbación del equilibrio entre las sustancias pro-oxidantes y antioxidantes a favor de las primeras, genera una situación conocida como estrés oxidativo. Como consecuencia de este se forman radicales libres con impredecibles daños a nivel celular por lo que se encuentran implicados en múltiples enfermedades. Todo ello a pesar de que la naturaleza ha desarrollado sistemas de control, los sistemas antioxidantes. En los últimos años se ha incrementado el interés por la búsqueda de antioxidantes naturales que contrarresten sus efectos, encontrándose resultados contradictorios para su uso.²³

Pero este oxígeno que es indispensable para la vida, puede ser también fuente de enfermedad a través de una elaboración incontrolada de radicales libres de oxígeno

(RLO) que dañan las macromoléculas (lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ácidos nucleicos) y alteran los procesos celulares (funcionalidad de las membranas, producción de enzimas, respiración celular, inducción génica, etc.²⁴

La oxidación es un método bioquímico que se caracteriza por la pérdida de electrones que está afiliado a otro de captación que llamamos reducción. Esta oxidación es necesaria para la vida debido a que participa en los procesos de producción de la energía celular. Sin embargo cuando existe un exceso de oxidación aparece el estrés oxidativo que es una realidad compleja en todos los niveles biológicos que no se puede medir ni definir con un solo parámetro. Hay una multitud de enfermedades que se han relacionado con el estrés oxidativo y la generación de radicales libres. Por esto, terapias antioxidantes y dietas ricas (como la dieta mediterránea) o enriquecidas con antioxidantes parecen anticipar o al menos reducir el deterioro funcional orgánico originado por un exceso de estrés oxidativo.²⁵

Es decir los alimentos son importantes en el control del estrés oxidativo. Una dieta rica en antioxidantes como vitaminas C, E, carotenoides, selenio, zinc y polifenoles reduce la incidencia de cáncer y enfermedades cardiovasculares y degenerativas.¹¹

2.2.4. ANTIOXIDANTES:

Los organismos han desarrollado sistemas de defensa antioxidante para hacer frente a la atmósfera oxidativa del planeta y al metabolismo oxidativo que permitió la evolución de la vida. Lo que permitió alcanzar eficientes sistemas amortiguadores antioxidantes que mantienen la condición de reducir a los radicales libres, las especies reactivas y los oxidantes endógenos y exógenos. Estos sistemas amortiguadores antioxidantes desembocan, se renuevan y se cargan de hidrógenos y

electrones a través del sistema de glutatión-NADPH y de la reducción de NADP⁺ a partir del metabolismo. De tal forma las enzimas antioxidantes, los sustratos antioxidantes y los antioxidantes endógenos y exógenos generan barreras para transportar la reducción de los oxidantes y reducir así su potencia oxidativa, con lo que se hace frente a la variedad de diversas especies y formas oxidativas capaces de agredir al organismo. Los sistemas antioxidantes se pueden medir de diferentes formas específicas y el sistema amortiguador antioxidante global se puede apreciar con las pruebas de capacidad antioxidante total.²⁶

La mejora tecnológica e interpretativa de estos métodos ha posibilitado profundizar en el conocimiento básico de las formas de defensa de la célula, ha multiplicado los estudios de capacidad antioxidante desde sustancias puras hasta organismos complejos, sirviendo incluso para métodos diagnósticos y de un análisis de la efectividad de los tratamientos.²⁶

Un antioxidante dietético es aquella sustancia que forma parte de los alimentos de consumo cotidiano y que puede prever los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos. Las propiedades antioxidantes no sólo deben analizarse por sus interacciones químico-biológicas, sino en función al deterioro oxidativo que afecta a los alimentos. Se usan en la industria alimentaria adicionados a las grasas u otros productos para retardar los procesos de oxidación, en tanto previenen el inicio de la rancidez oxidativa (grasas).²⁷

2.2.4.1. Sistema de defensa antioxidante celular

Estos mecanismos son adecuados a la muy corta vida media de los radicales libres y comprenden moléculas pequeñas, endógenas y exógenas con capacidad antioxidante. Los antioxidantes exógenos provienen de la dieta, y dentro de este grupo se incluyen la vitamina E, la vitamina C y los carotenoides. La vitamina C constituye el antioxidante hidrosoluble más abundante en la sangre, mientras que la vitamina E es el antioxidante lipofílico mayoritario. El selenio, el más tóxico de los minerales incluidos en nuestra dieta, participa junto con la vitamina E como antioxidante. La vitamina E está presente en aceites vegetales, aceites de semilla, germen de trigo, maní, carnes, pollo, pescados y algunas verduras y frutas, en tanto la vitamina C se puede hallar en frutas y verduras. Los carotenoides son compuestos coloreados tales como los beta carotenos, encontrados en verduras y frutas amarillas y anaranjadas, y en verduras verdes oscuras, los alfa carotenos en la zanahoria, los licopenos en el tomate, las luteínas y xantinas en verduras de hojas verdes como el brócoli, y las beta criptoxantinas en frutas cítricas.²⁷

Recientemente se han encontrado en algunos alimentos otros antioxidantes no nutrientes, los compuestos fenólicos. Algunas fuentes son los frijoles (isoflavonas), cítricos (flavonoides), cebolla (quercetina) y polifenoles (aceitunas). También se han hallado algunos antioxidantes fenólicos en el café, vino tinto y té. Por esta razón, la forma de reemplazar los antioxidantes para proteger al organismo del efecto oxidativo producido por los radicales libres es el consumo de alimentos ricos en vitamina E, vitamina C, carotenoides y otras sustancias que tienen función antioxidante, tales como los compuestos fenólicos.²⁷

El sistema de defensa antioxidante está compuesto por un grupo de sustancias que al encontrarse en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden analizar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se hallan en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN.

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente -membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular. La acción del antioxidante es de privación de su propia integridad molecular para eludir alteraciones de moléculas -lípidos, proteínas, ADN, etc.- funcionalmente vital o más importante. Su acción la llevan a cabo tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos. Los antioxidantes exógenos proceden como moléculas suicidas, ya que se oxidan al contrarrestar al radical libre, por lo que la reposición de ellos debe ser persistente, mediante la ingestión de los nutrientes que los contienen.²⁸

2.2.4.2. Características de las enzimas antioxidantes

Catalasa (CAT). Tiene una amplia repartición en el organismo humano, alta concentración en hígado y riñón, baja concentración en tejido conectivo y epitelios, prácticamente nula en tejido nervioso y se encuentra a nivel celular: mitocondrias, peroxisomas, citosol (eritrocitos); presenta 2 funciones fundamentales: catalítica y peroxidativa y forma parte del sistema antioxidante CAT/SOD que procede en presencia de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno.²⁸

Glutación peroxidasa (GPx). Es una enzima selenio-dependiente, cataliza la disminución de peróxido de hidrógeno a lipoperóxido (L-OOH), usa como agente reductor el glutación reducido (GSH) y se localiza en: citosol (eritrocitos), lisosomas (neutrófilos, macrófagos y otras células del sistema inmune). Existen 3 formas de GPx: GPx-c o forma celular, tiene mayor afinidad por el peróxido de hidrógeno que por el lipoperóxido; GPx -p o forma extracelular, muestra afinidad semejante para ambos sustratos; GPx-PH, tiene afinidad específica para los lipoperóxidos.²⁸

Las formas GPx-c y GPx-p no son capaces de usar los lipoperóxidos.

Superóxido dismutasa. Su repartición es amplia en el organismo, está compuesta por un grupo de enzimas metaloides: Cu-SOD y Zn-SOD que tienen cobre y cinc en su sitio activo y se hallan en el citosol y en el espacio inter-membranoso mitocondrial; Mn-SOD que tiene manganeso y se encuentra en la matriz mitocondrial; Fe-SOD que posee hierro y se ubica en el espacio periplasmático de la E. Coli. Estas enzimas dismutan el oxígeno para realizar peróxido de hidrógeno y su principal función es la defensa contra el anión superóxido.¹⁰

2.2.4.3. METODOS DE EVALUACION DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los métodos de la actividad antioxidantes comprueban cómo un agente oxidante induce daño oxidativo a un sustrato oxidable, daño que es inhibido o reducido en presencia de un antioxidante. Esta inhibición es proporcional a la actividad antioxidante del compuesto o la muestra. Además, los objetivos de los diferentes métodos de medida son diversos. Entre ellos señalamos la medida de la resistencia de un alimento a la oxidación, la evaluación cuantitativa del aporte en sustancias antioxidantes o la evaluación de la actividad antioxidante del

plasma una vez ingerido el alimento . Los métodos in vitro son necesarios para comparar la actividad antioxidante de diferentes muestras de alimentos. Los resultados son limitados desde un punto de vista nutricional, ya que no reproducen la situación fisiológica. Para alcanzar una mayor aproximación algunos ensayos incluyen radicales relevantes en los sistemas biológicos (O₂, H₂O₂, ROO, OH) . Por otra parte, la actividad antioxidante de un alimento in vitro difiere de su efecto antioxidante in vivo, ya que las transformaciones metabólicas que sufren los compuestos antioxidantes en el organismo modifican su actividad. Ciertos compuestos fenólicos poliméricos que presentan una baja actividad in vitro pueden, sin embargo, contribuir a la capacidad antioxidante del plasma después de su transformación metabólica en compuestos más simples. Así, dos muestras de té verde y negro, que daban resultados muy diferentes en experiencias in vitro, produjeron, tras su consumo, un incremento similar en la capacidad antioxidante del plasma . Por ello es importante tener en consideración aspectos como el grado de absorción de los compuestos, los productos del metabolismo que generan y la actividad de los mismos. Las medidas in vivo pueden reflejar las posibles interacciones entre los distintos componentes de la dieta.²⁹

Determinación de la actividad antioxidante

Método DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo).

Método fundamentado por Brand- Williams, donde es un radical orgánico, a la vista del antioxidante, donde se debe encontrar el grado de captura, lo que crea una disminución de la absorbancia a 515 nm.

El método del DPPH, este radical DPPH es adquirido directamente sin preparación. El DPPH es disuelto en medio orgánico, especialmente en etanol, lo cual es una importante limitación al interpretar la función de los antioxidantes hidrofílicos.²⁸

Métodos espectrofotométricos

Actualmente se han creado diversas técnicas espectrofotométricas para la determinación de sustancias de mezclas fenólicas en materiales de plantas, debido a su sencillez, rapidez, y a la gran gama de instrumentación disponible y sus grandes posibilidades de automatización. En muchos casos es posible la resolución de un problema analítico sin necesidad de recurrir a métodos de otro tipo.²⁹

Determinación de poli fenoles totales

a) Ensayos de Folin – Ciocalteu

El ensayo Folin-Ciocalteu es utilizado como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en extractos vegetales. Se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que medimos para evaluar el contenido en polifenoles.³⁰

2.2.5. COMPUESTOS FENOLICOS

Se trata de un gran grupo de compuestos encontrada en verduras y frutas, en los que realizan una potente acción antioxidante vital para el funcionamiento de las células vegetales. Un producto con contenido importante en polifenoles es el vino, componente esencial de la dieta mediterránea y que puede ser uno de los factores causantes de la baja incidencia de enfermedad coronaria en las poblaciones mediterráneas. Varios estudios han estudiado las posibles teorías de la así llamada "paradoja francesa" y el efecto de la dieta mediterránea, los que declararon que la correlación entre la mortalidad coronaria y el engerimiento de diferentes alimentos, en un conjunto de 21 países, es mucho mayor en el vino que para otras fuentes, como verduras y grasas vegetales. Por otra parte, la correlación positiva para grasas derivadas de productos lácteos es alta, de modo que estos autores priorizan el papel del vino sobre el de frutas y verduras. La capacidad antioxidante del vino está directamente relacionada con su contenido en polifenoles. El tipo de polifenoles determina en último término su capacidad antioxidante y su concentración cambia según su variedad, área de producción, técnicas agrarias, proceso de vinificación, vendimia, año y edad.²⁷

2.2.6. RADICALES LIBRES

Desde el punto de vista químico, los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica revelan un electrón desapareado o impar en el orbital externo que les da una configuración espacial generadora gran inestabilidad, señalado por el punto situado a la derecha del símbolo. Tienen una estructura birradicálica, son muy reactivos, poseen una vida

media corta, por lo que proceden cercano al sitio en que se forman y son complicados de dosificar. Desde el punto de vista molecular son pequeñas moléculas ubicuitarias y difusibles que se realizan por diferentes mecanismos entre los que se hallan la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y en los cloroplastos, y las reacciones de oxidación, por lo que realizan daño celular (oxidativo) al relacionarse con las principales biomoléculas del organismo.

No obstante lo expresado anteriormente, los radicales libres del oxígeno tienen una función fisiológica en el organismo como la de participar en la fagocitosis, apoyan en la síntesis de colágeno, y la síntesis de prostaglandinas, movilizan enzimas de la membrana celular, reducen la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, alteran la biomembrana y favorecen la quimiotaxis. Existe un término que añade a los radicales libres y a otras especies no radicáticas, pero que pueden intervenir en reacciones que llevan a el aumento de los agentes prooxidantes y son las especies reactivas del oxígeno (EROS).²⁸

III. HIPOTESIS:

Hipótesis implícita

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación

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

Obtención del extracto metanólico 80% (Extracción exhaustiva)

Para realizar la extracción exhaustiva se utiliza la muestra seca y triturada, se pesa exactamente cerca de 0,2528 g, se añaden 15 mL de metanol al 80% + ácido fórmico al 0,1%. El tubo se envuelve con una capa de aluminio y luego se coloca sobre el agitador magnético durante 30 minutos, después se centrifuga a 6000 rpm (revoluciones) durante 5 minutos, se separa el sobrenadante y se coloca en una fiola de 50 mL (envuelto con una capa de aluminio), este proceso de extracción se realiza 3 veces, finalmente se lleva a volumen con el solvente y se guarda en congelador hasta el momento del análisis respectivo.

Infusión: En un vaso de precipitación se agrega 200mL de agua tipo 2 y se lleva al calor hasta ebullición, luego retirar el agua del calor y agregamos 3.05 g. de muestra pulverizada, cubrir con papel aluminio y dejar reposar por 10 minutos y luego enfriar.

Contenido de poli fenoles totales por el método de Folin – Ciocalteu:

En una fiola de 10 ml se agregó 2,5 ml de agua tipo 2, después se añadió el estándar de catequina a concentraciones de 0,5; 1; 2,5; 5 y 10 ppm (mg/L) para obtener la curva de calibración a las demás fiolas se adicionó 100 µL de extracto metanólico al 80%, 25µl de infusión y 50 µl de la decocción. Posteriormente se agregó 500 µL de

Folin Ciocalteu y se llevó a oscuridad por 5 minutos. Pasado los minutos se agregó 2 ml de carbonato de sodio al 10%, seguidamente se aforó con agua tipo 2 continuando se llevó a oscuridad por 90 minutos, finalmente se realizó la lectura en 15 el espectrofotómetro ÚNICO 2800 UV/Vis a una longitud de onda de 700 nanómetros. Las mediciones se efectuaron 3 veces.

Preparación del DPPH:

Se preparó metanol en 100 ml, en el que se necesitó 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.

Evaluación de la capacidad antioxidante por el método de 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazil (DPPH).

Para determinar la actividad antioxidante se añadió 1450 μ L de DPPH a 0.06 mM 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 50 μ L de muestra de hojas y se mantuvo a oscuridad durante 15 minutos para observar una reacción a través de una decoloración y se lee nuevamente la absorbancia a tiempo 15 (DPPH t15), realizando las mediciones por triplicado.

Para obtener la curva de calibración, se utilizó como estándar el Trolox a concentraciones de 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 mM.

Fundamento del método.- La reacción se basa en que el radical libre estable DPPH* de un color azul intenso, sustrae un átomo de hidrógeno proveniente de una

sustancia donadora de electrones, y como consecuencia de ello se produce una disminución del color del DPPH* hasta tornarlo pardo claro.

Para determinar el % de inhibición se utilizó la siguiente formula.

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{DPPH } t_0 - \text{DPPH } t_{15}}{\text{DPPH } t_0} \times 100$$

DPPH t0

4.2. Población y muestra

Droga vegetal: Para este estudio las hojas y tallo de la planta *Lippia Alba* se recolectaron en el distrito de nvo. Chimbote aproximadamente 1Kg de hojas y 1Kg de tallos, que fueron secadas a 45°C por 4 horas en la estufa luego se pulverizo y se obtuvo aproximadamente 100g de cada muestra que se almaceno hasta su uso.

Criterios de inclusión.

Las hojas y tallos de *Lippia alba* en buen estado vegetativo

4.3 Definición y Operacionalización de Variables

| Variable | Definición conceptual | Definición operacional | Indicador |
|---|---|---------------------------------------|--------------------------------------|
| Capacidad antioxidante de las hojas y tallo de <i>Lippia alba</i>. | Sustancia que al encontrarse oxidable, esta retarda la oxidación de la misma. | Secuestro de radicales libres. (DPPH) | .mM trolox q/ 1g muestra seca |
| Contenido de Polifenoles de los extractos de <i>Lippia Alba</i>. | Son grupos de sustancias heterogéneos que comparten uno o más grupos fenol por molécula, una característica común en su estructura molecular. | Tècnica de folin-ciocalteu. | Mg de catequina eq/g de muestra seca |

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se utilizó la observación directa, medición y registro de las reacciones de coloración y medición en el espectrofotómetro. Los datos obtenidos fueron registrados en fichas de recolección de datos

4.5. Plan de análisis:

Los resultados se presentaron con datos de medidas de tendencia central: promedio y desviación estándar. Regresión lineal para la elaboración de la curva de calibración del estándar

4.6 Matriz de consistencia

| TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN | FORMULACIÓN DEL PROBLEMA | OBJETIVOS: | HIPOTESIS | VARIABLES | TIPO DE INVESTIGACIÓN | METODOLOGÍA |
|---|---|--|------------------|---|-----------------------|--|
| <p>Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de las hojas y tallo de <i>Lippia Alba</i> (Mill) N.E. Brown .</p> | <p>¿En los diferentes extracto de las hojas y tallo de <i>Lippia Alba</i> (Mill) N.E. Brown tendrá contenido de polifenoles y capacidad antioxidante?</p> | <p>Objetivo general: Determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de las hojas y tallos de <i>Lippia alba</i> (Mill) N.E. Brown (Pampa orégano)</p> | <p>implícito</p> | <p>Cuantificación de polifenoles y Actividad antioxidante Contenido de polifenoles en las hojas y tallo de <i>Lippia Alba</i> (Mill) N.E. Brown.</p> | <p>Descriptivo</p> | <p>Diseño de Investigación: -Determinación de polifenoles por el método de Folin-Ciocalteu -Determinación de capacidad antioxidante por el método de DPPH.</p> |

4.7 principios éticos

Teniendo en cuenta la Declaración de Helsinki, se promoverá la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso de las 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 de las hojas y tallo de *Lippia alba*, según tipo de extracto.

| Muestra | Parte de la planta | Tipo de extracto | Polifenoles (mg de catequina eq./g de muestra seca) |
|--------------------|--------------------|------------------|--|
| <i>Lippia Alba</i> | Hojas | Metanòlico | 17.36±0.70 |
| <i>Lippia Alba</i> | Tallo | Metanòlico | 15.67±0.65 |
| <i>Lippia Alba</i> | Hojas | Infusión | 6.11± 0.05 |
| <i>Lippia Alba</i> | Tallo | Infusión | 13.85± 0.90 |

Fuente: Datos propios de la investigación

Tabla 2. Capacidad antioxidante de las hojas y tallo de *Lippia alba*, según tipo de extracto

| Muestra | Parte de la planta | Tipo de extracto | DPPH (mM Trolox Eq./1 g muestra seca | ± |
|--------------------|--------------------|------------------|--------------------------------------|-------|
| <i>Lippia Alba</i> | Hojas | Metanòlico | 115.56± | 12.47 |
| <i>Lippia Alba</i> | Tallo | Metanòlico | 33.95± | 1.05 |
| <i>Lippia Alba</i> | Hojas | Infusión | 137.66 ± | 1.42 |
| <i>Lippia Alba</i> | Tallo | Infusión | 112.83± | 3.11 |

Fuente: Datos propios de la investigación

5.2. Análisis de Resultados:

En la actualidad, debido a la limitada acción de tratamientos frente a enfermedades que se controlan pero no se curan, la medicina tradicional es una alternativa a fin de encontrar nuevas rutas que den solución a estas enfermedades, que epidemiológicamente van en aumento, por cambios en el estilo de vida, debido al fenómeno de globalización, en todos los aspectos.³⁰

La determinación de polifenoles es un estudio muy utilizado porque permite conocer el contenido de polifenoles presentes, en esta investigación se realizó a través del método de Folin-Ciocalteu que es muy utilizado para la determinación de compuestos polifenólicos en extracto exhaustiva.³¹

Este método determina la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes, ya que este reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, quienes reaccionan con cualquier tipo de fenol, obteniendo complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno y molibdeno, siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula.³²

En la tabla 1 muestra que la cantidad de polifenoles que se obtuvieron en el extracto metanólico de las hojas de *Lippia Alba* fue (17.36 ± 0.70) /mg de catequina eq. /g de muestra seca). en el extracto metanólico del tallo se observó 15.67 ± 0.65 , en infusión (hojas) se obtuvo 6.11 ± 0.05 , en infusión (tallo) se obtuvo (13.85 ± 0.90) .

Se deduce que se obtuvieron estos resultados porque para esta técnica se realizó mediante extracción exhaustiva, un tipo de extracción que atrapa la mayoría de metabolitos polares como los polifenoles ,a diferencia en infusión son sometidas a altas temperaturas donde los metabolitos tienden a degradarse. Los resultados se comparan con otra investigación realizada en el año 2007 de las hojas de *Lippia Alba* donde los compuestos fenoles presentes en las muestras se cuantificaron utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu (FC). La absorbancia se leyó a una longitud de onda de 760nm. El contenido fenólico total se determinó en miligramos equivalentes de ácido gálico, utilizando la ecuación obtenida a partir de estándares (10-50µg/ml) del mismo ácido.³³

Existen diferentes métodos para determinar la actividad antioxidantes, en esta investigación la actividad antioxidante en los extractos de las hojas y tallo de *Lippia Alba*, fue determinada por el método del DPPH (1,1-difenil-2- picril-hidrazilo) que consiste en determinar la pérdida de la coloración violeta intensa cuando éste es capturado por un atrapador de radicales libres; la absorbancia máxima de este radical se da a 517nm, dicha longitud de onda fue la utilizada en la presente investigación.³⁴

En la tabla 2, muestra la determinación de la capacidad antioxidante en el extracto metanólico de las hojas fue 115.56 ± 12.47 , en el extracto metanolico del tallo fue 33.95 ± 1.05 y en infusión (hojas) 137.66 ± 1.42 , infusión (tallo) 112.83 ± 3.11 expresados en mM Trolox eq / g de muestra seca.

Los resultados de esta investigación se comparan al realizado en el año 2009 donde determinaron si tiene actividad antioxidante in vitro las hojas y el extracto de flores metanólicas de *Lippia alba*. Así mismo buscaron determinar el poder reductor de los

extractos. Los resultados mostraron que los extractos de las hojas y tallo de *Lippia alba* mostraron actividad de barrido de DPPH (1, 1-difenil-2-picril-hidrazil) muy significativa comparada con el antioxidante estándar. La actividad de eliminación del radical DPPH del extracto por lo tanto concluyó que los extractos tienen una fuente potencial de antioxidantes de origen natural.¹³

Estos resultados confirman la capacidad antioxidante de *Lippia alba* que podría estar relacionada con la presencia los metabolitos secundarios determinados en el presente estudio mediante el análisis fitoquímico tales como: compuestos fenólicos, flavonoides, catequinas, alcaloides, triterpenos, entre otros compuestos.³⁵

Los antioxidantes son indispensables hoy en día, por sus inmensos beneficios que aportan a la salud, ya que debido al exceso de radicales libres en nuestro organismo se desencadena muchas enfermedades como el cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares.

VI.CONCLUSION

-Se concluye que en la determinación del contenido de poli fenoles se obtuvo en las hojas del extracto metanolico (17.36 ± 0.70) /mg de catequina eq. /g de muestra seca), en el extracto metanolico del tallo se observó 15.67 ± 0.65 , en infusión (hojas) se obtuvo 6.11 ± 0.05 mg de catequina eq. /g de muestra seca, en infusión (tallo) se obtuvo (13.85 ± 0.90) mg de catequina eq. /g de muestra seca y en la determinación de la capacidad antioxidante en el extracto metanólico de las hojas se obtuvieron 115.56 ± 12.47 , en el extracto metanolico del tallo fue 33.95 ± 1.05 y en infusión (hojas) 137.66 ± 1.42 , infusión (tallo) 112.83 ± 3.11 expresados en mM Trolox eq / g de muestra seca.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICAS

1. Beyra A, et al. Estudios etnobotánicas sobre plantas medicinales en la provincia de camaguey (Cuba). Anales del jardín Botánico de Madrid. 2004, 61(2):185-203. Disponible en:

<http://www.redalyc.org/pdf/556/55661207.pdf>

2. González J. Uso tradicional de plantas medicinales en la vereda San Isidro, municipio de San José de Pare-Boyacá: un estudio preliminar usando técnicas cuantitativas. Acta Biológica Colombiana 2006; 11 (2):137-146. [Citado 2018-04-30] Disponible en:

<http://www.scielo.org.co/pdf/reus/v17n1/v17n1a09.pdf>

3. Escalona L. Uso tradicional de plantas medicinales por el adulto mayor en la comunidad serrana de Corralillo Arriba. Guisa, Granma. Revista Cubana de Plantas Medicinales [revista en Internet]. 2015 [citado 2018 May 17];20(4):[aprox.0p.]. Disponible en:

<http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/274>

4. HUAMANTUPA.I, et al. Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados de la ciudad del Cusco. Rev. Perú biol. [online]. 2011, vol.18, n.3, pp.283-292. ISSN 1727-9933.

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332011000300004

5. Sepúlveda C. et al. II.Revista Cubana de Plantas Medicinales 2016;21(2):133-144

<http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v21n2/pla02216.pdf>

6. Vera A P, Olivero V J T., Jaramillo B E., Stashenko E. Efecto protector del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E.: Brown sobre la toxicidad del mercurocromo en raíces de *Allium cepa* L. Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2010 Mar [citado 2018 Abril 30] ; 15(1): . Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000100004&lng=es

7...GARCIA E; FERNANDO F, Castro A; GUTIERREZ U, GARCIA S. Revisión de la producción, composición fotoquímica y propiedades nutraceuticas del orégano mexicano. Rev. Mex. Cienc. Agríc [online]. 2012, vol.3, n.2, pp.339-353. ISSN 2007-0934. [Citado 2018-05 -12].Disponible:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342012000200010

8. ARANGO O., PANTOJA D. SANTACRUZ L.HURTADO A. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial.Vol 10 No. 2 (79 - 86) Julio - Dic 2012.Citado 2018-09-23.Disponible:

<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v10n2/v10n2a10.pdf>

9. Chand, N., Chaulya, Kanti, P., Mukherjee, A. (2010). Actividad in vitro de eliminación de radicales libres del extracto de metanol de rizoma de *Cyperus*

tegetum Roxb. (Cyperaceae). Revista Internacional de Investigación Farmacéutica Actual, 2 (3), 39-43

10. Kalpana R., Mital, K., y Sumitra, Cap. (2011) Cáscaras de vegetales y frutas como

nueva fuente de antioxidantes. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (1),61-71)

11. Henao R, et al. Actividad bactericida de extractos acuosos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown contra *Helicobacter pylori*. *Rev Col Gastroenterol* [Internet]. 2011 June [cited 2018 May 14]; 26(2): 82-87. Available from: Disponible en :

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012099572011000200002&lng

12. Soto DA, García GR, Ramírez CY, Morán M J , Serrano GLB. El Extracto Acuoso de Orégano (*Lippia graveolens* HBK) del Norte de México Tiene Actividad Antioxidante sin Mostrar un Efecto Tóxico in vitro e in vivo. *Int. J. Morphol.* [Internet]. 2012 Sep [citado 2017 Jul 24]; 30(3): 937-944. Disponible en:

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-9502201200030002

13. Vera A P, Olivero V J T., Jaramillo B E., Stashenko E. Efecto protector del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E.: Brown sobre la toxicidad del mercurocromo en raíces de *Allium cepa* L. *Rev Cubana Plant Med.Colombia.* [Internet]. 2010 Mar [citado 2017 Jul 24]; 15(1): . Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000100004&lng=

14. Pino J, et al. Composición y propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) n. e. Brown. Cuba. [Internet]. 1996 Abr [citado 2017 Jul 24] ; 30(1 Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75151996000100007&lng=e
15. Naznin A., Hasan N. In Vitro Antioxidante Activity of Methanolic Leaves and Flowers Extracts of *Lippia Alba*. Research Journal of Medicine and Medical Sciences[Internet].2009[citado 2017 Jul 24]; 4(1): 107-110. Disponible en: <http://arnmsmb.com/old/rjmms/rjmms/2009/107-110.pdf>
16. Oliveira DR, Leitão, GG, Santos SS, Bizzo HR, Lopes D., Alviano, CS,et al. Estudio etnofarmacológico de dos especies de *Lippia* de Oriximiná, Brasil. [Internet]. 2006Nov.[citado 2017 Jul 24]; 108(1): 103-108. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874106002236>
17. Oliveira G. Capacidad Antioxidante del Extracto Acuoso de *Averrhoa carambola* L. (carambola) frente a diversos sistemas generadores de radicales libres. [Tesis]Universidad Mayor de san Marcos.2014.Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3943>
18. Ramos I. Capacidad antioxidante in vitro y actividad regeneradora in vivo de una crema cosmética con extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (kunth) MC Vaugh Camu Camu. [Tesis] Universidad Mayor de san Marcos.2017.Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/6997>

19. Dávila A. et al. Iquitos – Perú enseñaron su tesis que lleva como título “Análisis Bromatológico de la carambola (Averrhoa carambola L) Camu Camu “Myrciaria dubia H.B.K.Me Vaugh” y su capacidad antioxidante. [Tesis] Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.2014.Disponible en:

<http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/2898>

20. Medicina Natural en Chile. [Revista en línea]. [Consultado el 03 de octubre del 2018]. Disponible en:

<http://www.medicina-natural.cl/definicion-plantas-medicinales/>

21. Salaverry O, Cabrera J. Florística de algunas plantas medicinales.[Revista en línea]. 2014[Consultado el 03 de octubre del 2018] ; 31(1): 165-168. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726

22. Paola A.et al. Efecto protector del aceite esencial de Lippia alba (Mill.) N.E.: Brown sobre la toxicidad del mercurocromo en raíces de Allium cepa L.Rev Cubana. [Revista en línea].201 [Consultado el 05 de octubre del 2018];15(1): . Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000100004&lng=es

23. Viada E, Gómez L, Campaña Marrero Ibel Reyna. Estrés oxidativo. [Revista en línea]. 2017 [Consultado el 05 de octubre del 2018] ; 21(1): 171-186. Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812017000100014&lng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812017000100014&lng=es)

24. Elejalde J. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. An. Med. Interna (Madrid) [Consultado el 05 de octubre del 2018]. 2001 [Consultado el

05 de octubre del 2018];18(6): 50-59. Disponible en:

http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992001000600010&lng=es.

25. Quintanar M; Calderón J. La Capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. Universidad Nacional Autónoma de México. Revista de Educación Bioquímica. . [Revista en línea] 2015 [Consultado el 05 de octubre del 2018] vol. 28, pp. 89-101. Disponible en:

<http://www.redalyc.org/pdf/490/49016098004.pdf>

26. Coronado M.et al. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. chile. [Revista en línea] 2015 [Consultado el 05 de octubre del 2018] ; 42(2): 206-212. Disponible en:

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182015000200014&lng=es.

27. Avello M, & Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea (Concepción) [Revista en línea] 2015 [Consultado el 05 de octubre del 2018] ; (494), 161-172. Disponible en:

https://dx.doiscielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-04622006000200010.org/10.4067/S0718-04622006000200010

28. Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Cuba [Revista en línea]. 2002 [Consultado el 05 de octubre del 2018] ; 31(2): 126-133. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009&lng=es.

29. Fernández S, et al. Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos in vivo. Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. España. Disponible en:

www.researchgate.net/publication/262704807_Revision_de_los_metodos_de_evaluacion_de_la_actividad_antioxidante_in_vitro_del_vino_y_valoracion_de_sus_efectos_in_vivo

30. Organización Mundial de la Salud. 56ª Asamblea mundial de la salud. Medicina tradicional.

<http://apps.who.int/iris/handle/10665/80004003>

31. 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>

32. Roginsky V, Lissi E. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. Food Chemistry [Revista en línea]. 2005 [consultado el 15 de Oct. 2018]. (92) 235–254. Disponible en:

<http://sci-hub.tw/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.004>

33. Varon E. et al. Tamizaje fitoquímico y actividad antioxidante de extractos acuoso y orgánicos de *Justicia pectoralis* Jacq. (amansa toros) y de volátiles y no volátiles de *Lippia alba* Mill. (pronto alivio) cultivadas en diferentes pisos térmicos. Scientia et Technica Año XIII, No 33, Mayo de 2007. UTP. ISSN 0122-1701. Disponible en:

<http://www.redalyc.org/pdf/849/84933100.pdf>

34. Kuskoski E, et al col. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Cienc. Tecnol. Aliment.,Campinas, 2005. 25 (4):726-732.Disponible en:

<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101> .

35. Cuentas, R; et al. Evaluación del efecto antioxidante de hojas de *Lepidium peruvianum* Chacón, “maca” Horizonte Médico, vol. 8, núm. 1, junio, 2008, pp. 45-55 Universidad de San Martín de Porres. La Molina, Perú. Disponible en:

http://www.medicina.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2008_1/Art3_Vol08_N1.pdf

ANEXOS



Herbarium Truxillense (HUT)

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



Constancia N° 010 – 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:** Lamiales
- **Familia:** Verbenaceae
- **Género:** *Lippia*
- **Especie:** *L. alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson

Muestra alcanzada a este despacho por GLADYS MERCEDES CASTILLO QUIÑONES, identificado con DNI N° 32949925, con domicilio legal en Villa Santa Rosa del Sur 2da. Etapa Mz. F´Lte. 15, Nuevo Chimbote; estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: "Efecto Antiulcerogénica de las hojas de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson "

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

Trujillo, 06 de marzo del 2018



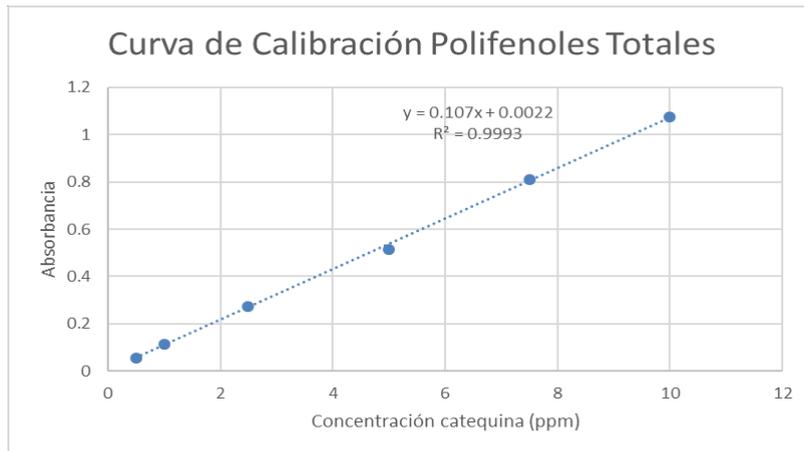

Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT

cc. Herbario HUT

E- mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

Grafico 1:

Curva de calibración de poli fenoles totales.

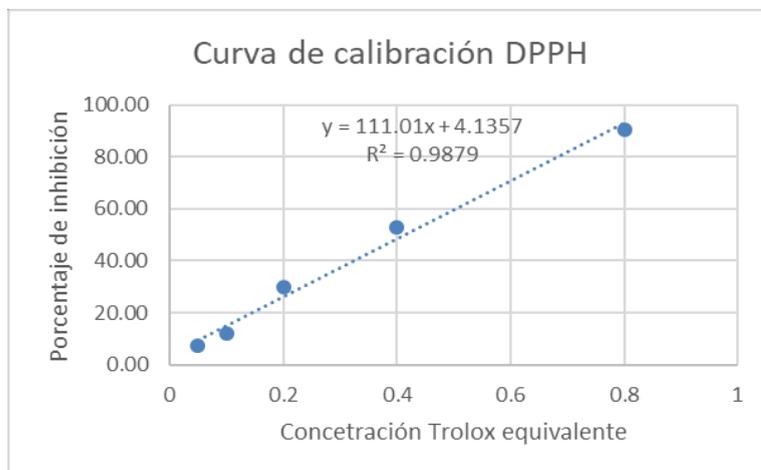


Fuente: Datos de la Investigación

Tabla 1: Contenido de Poli fenoles por gramo de las hojas y tallo secas de *Lippia Alba*.

Grafico 2:

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



Fuente: Datos de la Investigación

Tabla 2. Capacidad antioxidante por gramo de las hojas y tallo de *Lippia alba*.