



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES DEL EXTRACTO
METANÓLICO DE HOJAS Y TALLOS DE *Verbena*
***litoralis* “VERBENA”**

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

AUTOR:

ABANTO AGUILAR, SANDRA ABIGAIL

ORCID: 0000-0003-4703-3857

ASESOR:

VASQUEZ CORALES, EDISON

ORCID:0000-0001-9059-6394

CHIMBOTE – PERÚ

2021

CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES DEL EXTRACTO
METANÓLICO DE HOJAS Y TALLOS DE *Verbena litoralis*
“VERBENA”

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Abanto Aguilar, Sandra Abigail

ORCID: 0000-0003-4703-3857

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Chimbote, Perú

ASESOR

Vásquez corales, Edison

ORCID:0000-0001-9059-6394

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de
la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote, Perú

JURADO

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID ID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID ID: 0000-0002-6374-8732

JURADO EVALUADOR

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

PRESIDENTE

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Dr. Edison Vásquez Corales

Asesor

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por la vida y salud de mis padres, por bendecirme con una hermosa familia, por otorgarme salud y bienestar cada día de mi vida, así mismo por ayudarme a cumplir mis sueños y metas.

Agradezco a mis padres, Juan Abanto Murrugarra y Metzy Aguilar Valiente, por brindarme la vida, por su cariño, amor, apoyo incondicional y orientación día a día, por guiarme por un camino de bien, por confiar y creer en que puedo lograr todo lo que me proponga.

Agradezco a todos mis profesores por brindarme todos sus conocimientos y sabiduría a lo largo de mi vida universitaria, por incentivar me a ejercer de forma adecuada la profesión.

Agradezco a mi asesor Edison Vásquez Corales, por brindarme consejos y recomendaciones, además por toda su paciencia a lo largo del desarrollo de mi trabajo de investigación.

DEDICATORIA

Dedicado con mucho afecto a todas aquellas personas que me han brindado su apoyo en este arduo camino por cumplir y que me ayudaron a seguir mis sueños y metas.

A las personas que me brindaron su apoyo incondicional, para poder cumplir una de mis metas, enseñaron a persistir con optimismo y entusiasmo diciéndome las palabras justas y necesarias en los momentos precisos, con mucho amor para mis queridos padres Metzy Aguilar Valiente y Juan Abanto Murrugarra.

RESUMEN

La presente investigación realizada tuvo como objetivo Cuantificar flavonoides totales del extracto metanólico de hojas y tallos de *Verbena litoralis* “Verbena”. El trabajo de investigación es del tipo de Investigación básico, se realizó bajo un enfoque cuantitativo. Nivel de Investigación descriptivo. Diseño es de tipo no experimental. La obtención de extracto metanólico fue mediante una extracción exhaustiva, se determinó el contenido de flavonoides totales empleando el método de Liu y Col, teniendo como referencia la catequina. Los resultados obtenidos respecto al contenido de flavonoides totales tuvo una medida y desviación estándar de 24.18 ± 1.09 mg de catequina eq./g de muestra seca en las hojas y 0.82 ± 0.14 mg de catequina eq./g de muestra seca en tallos de *Verbena litoralis*. En conclusión, se demostró que las hojas y tallos de *Verbena litoralis* “Verbena” presenta flavonoides totales.

Palabras claves: *Verbena litoralis*, flavonoides, espectrofotometría.

ABSTRACT

The present investigation carried out aimed to quantify total flavonoids of the methanolic extract of leaves and stems of *Verbena litoralis* "Verbena". The present work is of the basic research type, it was carried out under a quantitative approach. Descriptive Research Level. Design is non-experimental. The methanolic extract was obtained by exhaustive extraction, the content of total flavonoids was determined using the method of liu et al, taking catechin as a reference. The results obtained regarding total flavonoids had a measure and standard deviation of 24.18 ± 1.09 mg of catechin eq./g of dry sample in the leaves and 0.82 ± 0.14 mg of catechin eq./g of dry sample in stems of *Verbena litoralis*. In conclusion, it was shown that the leaves and stems of *Verbena litoralis* "Verbena" present total flavonoids.

Keywords: *Verbena litoralis*, flavonoids, spectrophotometry

CONTENIDO

EQUIPO DE TRABAJO	ii
JURADO EVALUADOR	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DEDICATORIA	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
CONTENIDO	viii
ÍNDICE DE TABLAS	x
I. INTRODUCCIÓN	1
Objetivo General	2
Objetivos específicos	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. ANTECEDENTES	3
2.2. BASES TEÓRICAS	5
III. HIPÓTESIS	13
IV. METODOLOGIA	14
4.1. Diseño de la investigación	14
4.2. Población y muestra	14
4.3. Definición y operacionalización de variables	15
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	16
4.4. Plan de análisis	18
4.5. Matriz de consistencia	19
4.6. Principios éticos	20

V. RESULTADOS	20
5.1. Resultados	20
5.2. Análisis de resultados	21
VI. CONCLUSIONES	22
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	24
VIII. ANEXOS	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Cantidad de flavonoides totales expresado como mg de catequina eq/g de muestra seca en el extracto metanólico de hojas y tallos de *Verbena litoralis*

20

I. INTRODUCCIÓN

El presente estudio proviene de la línea de investigación en plantas medicinales de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica “Los Ángeles de Chimbote”

Desde la antigüedad las plantas medicinales han venido cumplido un rol de suma importancia para la cura de enfermedades y dolencias a nivel mundial, esto debido a que a menudo es el único tratamiento accesible y asequible. En la actualidad alrededor del 50% de las plantas en uso han ido desapareciendo de la popular farmacopea. El conocimiento de las plantas sobre la población es mucho más extenso, mayormente esto se da en la región andina. ⁽¹⁾

Las personas recurren principalmente a las plantas medicinales para poder solucionar sus principales necesidades de salud, la gran parte de las terapias tradicionales se realiza con el extracto de las plantas o de sus principios activos para poder sanar o aliviar la mayoría de los males que son conocidos. ⁽²⁾

Existen diversas especies de Verbena L. en la familia verbenácea, de entre ellas cabe destacar la especie *Verbena litoralis* Kunth, esta especie se suele ser muy utilizada en la medicina popular por sus diversas propiedades, las cuales son hepatoprotectoras, digestivas, antiinflamatorias, antidiarreicas, antimicrobiana, cicatrizante. entre otras. ⁽³⁾

Algunas de las principales propiedades medicinales de esta planta son su actividad antiinflamatoria y antioxidante, debido a que estas actividades son dadas por el metabolito flavonoide, el cual es uno de los principales metabolitos secundarios de esta planta. Los flavonoides presentan una estructura de 15 carbonos con 2 anillos bencénicos, los cuales se encuentran unidos por un anillo piano heterocíclico, los

flavonoides presentan diversidades actividades biológicas entre ellas esta antiespasmódica, hepatoprotectora, antifúngica, pero las actividades de mayor interés, es su actividad antioxidante y antiinflamatoria, por ello cumplen una importante función protectora a diversas enfermedades. ^(4,5)

Por lo anterior descrito, la presente investigación es justificada ya que en la actualidad la utilización de las plantas medicinales se lleva acabo como una alternativa, muchas personas utilizan las plantas para curar distintas enfermedades que los quejan. Estas plantas presentan principios activos capaces de curar o tratar diversas enfermedades. Una de las plantas que suelen utilizar para reducir la inflamación es *Verbena litoralis*.

El desarrollo de esta investigación consiste en demostrar la cantidad de flavonoides que presenta el extracto metanólico de hojas y tallos de *Verbena litoralis*. Se pretende dar a conocer si es que la cantidad de flavonoides que presenta esta planta es óptima para ser utilizada en la medicina natural.

En base a lo descrito se propone el problema de investigación: ¿El extracto metanólico de hojas y tallos de *Verbena litoralis* presentarán flavonoides totales?

Objetivo General

- Cuantificar flavonoides totales del extracto metanólico de hojas y tallos de *Verbena litoralis* “Verbena”.

Objetivos específicos

- Determinar el contenido de flavonoides totales en el extracto metanólico de las hojas de *Verbena litoralis* “Verbena”.
- Determinar el contenido de flavonoides totales en el extracto metanólico de los tallos de *Verbena litoralis* “Verbena”

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

En el año 2016 Silverio; realizó una investigación sobre la Determinación de Flavonoides y glucósidos en *Verbena litoralis*. se ha formulado la evaluación fitoquímica para determinar flavonoides y glúcidos. El método que se realizo fue; el método gravimétrico y la técnica que se empleó; Prensado, tamizaje fitoquímico, extracción liquido-liquido. Se determino presencia de taninos y fenoles en extracto metanólico, así como fenoles, taninos y flavonoides en el extracto hidrometanólico, concluyendo que los metabolitos secundarios se obtienen mejor en el extracto hidrometanólico. ⁽⁶⁾

En el año 2013, De Lima; realizo su investigación sobre el control de calidad y actividad antimicrobiana de *Verbena litoralis* Kunth, con el objetivo de realizar el control de calidad físico-químico de las partes aéreas de la droga vegetal, realizar la determinación de polifenoles, flavonoides y taninos provenientes de las cuatro estaciones del año, extraer el aceite esencial, así como someter al ensayo de actividad antimicrobiana. Hubo presencia de polifenoles, taninos y flavonoides en diferentes estaciones del año. Concluyendo que los datos obtenidos permiten un uso adecuado de la planta. ⁽⁷⁾

En el año 2012, Braga, et al. realizaron una investigación sobre Actividades de Micropropagación, antinociceptivos y antioxidantes de *Verbena litoralis* Kunth (Verbenaceae). Este trabajo describe un protocolo de micropropagación eficiente y el estudio de las actividades antinociceptivas y antioxidantes en extractos de esta especie. Para el establecimiento in vitro, los procedimientos de esterilización de superficie y PVPP mostraron una alta eficacia en la contaminación de hongos y bacterias y en los

controles de oxidación de fenol. Los resultados de este estudio mostraron Valores de CI50 de 169.3 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y 2.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, indicando una alta capacidad antioxidante. El potencial del cultivo confirmó el uso tradicional de *V. litoralis* en la medicina popular. ⁽⁸⁾

Souza, et al en el año 2005. Realizaron la investigación de Análisis morfo-histológico y fitoquímica de *Verbena litoralis* Kunth. Se determinaron el perfil fitoquímico y parámetros morfo-anatómicos de *Verbena litoralis* Kunth, planta reconocida popularmente como medicinal, objetivando su diagnóstico como insumo farmacéutico. El mesófilo bifacial, la disposición del esclerénquima, los tricomas glandulares y los techos, así como la ausencia de drusas y cristales de oxalato de calcio son características significativas en el control botánico de calidad de esta especie para la industria farmacéutica. Como resultado del análisis fitoquímico se destaca la presencia de flavonoides, cumarinas, saponinas, taninos y cardioactivos. ⁽⁹⁾

Quispe, Rojas en el año 2013; Realizaron la investigación de Actividad Antioxidante del Extracto Alcohólico de Hojas de *Verbena litoralis* Kunth “Verbena” en Iquitos, Loreto, Perú. La *Verbena litoralis* Kunth “verbena” es una hierba perenne, cultivada y comercializada en los mercados locales de Iquitos, usada en la medicina tradicional para muchas afecciones y presenta un alto potencial antioxidante. Teniendo como objetivo evaluar la actividad antioxidante del Extracto alcohólico de hojas de *Verbena litoralis* Kunth “verbena” mediante espectrofotometría utilizando como indicadores los radicales libres 2,2- difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). La actividad antioxidante fue examinada utilizando la actividad secuestradora del DPPH, actividad inhibidora de la formación del radical hidroxilo. Se obtuvo un rendimiento de 1,40 %, el ICSO fue 213 \pm 1.80 $\mu\text{g/ml}$ con un 80.2 % de máxima inhibición. Conclusión: Se concluye que, los

metabolitos secundarios presentes en el extracto alcohólico de las hojas de *Verbena litoralis* Kunth “verbena” tienen actividad antioxidante a las dosis ensayadas. ⁽¹⁰⁾

En el año 2014, Lezcano, Cubas; realizaron una investigación sobre la planta verbena cimarrona perteneciente a la familia verbenacea, con el objetivo de identificar y dosar en Verbena cimarrona la presencia de flavonoides, taninos y alcaloides. Se realizaron pruebas espectrofotométricas para determinar flavonoides totales, taninos totales y alcaloides totales, los resultados obtenidos fueron; flavonoides totales 38.8% en flores y 17.3% en hojas, taninos totales 0.34% en flores y 0.27% en hojas. De esta manera se confirma que la actividad antiinflamatoria de esta especie se debe a la presencia de flavonoides encontrados. ⁽¹¹⁾

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1 Clasificación taxonómica de *Verbena litoralis* Kunth

Según Quispe M. ⁽¹⁰⁾ la taxonomía de *verbena litoralis* es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Angiospermae

Sub división: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub clase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Verbenaceae

Género: Verbena

Especie: Litoralis

Nombre científico: *Verbena litoralis* Kunth

Nombre vulgar: Verbena, verbena de litoral

2.2.2 Descripción botánica

Verbena litoralis Kunth es una planta perenne que puede llegar a tener una altura de 2 metros, tiene varios tallos erectos y con ramificaciones que alcanza unos 40 cm, presenta hojas opuestas, que miden 2 a 8 cm de largo y 0.5 a 2.5 cm de ancho, son hojas en forma de lanza, cerradas en el margen, su cáliz mide de 2 a 3 mm de longitud, posee dientes pequeños, presenta inflorescencias de 10 hasta 50 espigas erectas con flores las cuales suelen ser de un color morado, azul o lila. ⁽¹²⁾

2.2.3 Distribución y habitat

Verbena litoralis Kunth es una planta nativa de américa, extendiéndose desde México hacia el sur atravesando el centro y Sudamérica, crece en cualquier tipo de suelo que posea abundante materia orgánica y que drene con facilidad, suele crecer en terrenos secos y húmedos, a las faldas de los cerros, en los cultivos, en los bordes de la carretera y en los laterales de los ríos y acequias, en algunos lugares es considerada una maleza nociva. Esta planta se suele encontrar desde el nivel del mar hasta los 3500 msnm. ⁽¹³⁾

2.2.4. Uso tradicional

Es una planta que suele ser muy utilizada en problemas de infección, en dolores hepáticos, en casos de síndrome febril, inflamación, ulceración, moretones. Esta planta suele ser muy empleada a través de infusiones, extractos, maceraciones, jugo de las

flores y hojas por un lapso aproximado de 2 a 3 días, así mismo esta plata también puede ser utilizar para lavar heridas y ayudar a la cicatrización de ellas. ^(14,15)

2.2.5. Composición química

La familia verbenácea presenta diversos compuestos como las saponinas, taninos, glicósidos, aceites esenciales, flavonoides, quinonas, entre otros.

Verbena es una planta que presenta diversos compuestos químicos tales como, aceites esenciales, Flavonoides, iridoides heterocíclicos, carbohidratos, saponinas, verbenalina, verbenalol, emulsina, sustanciosas amagas, mucilagos y betacarotenos. ⁽¹⁶⁾

2.2.6. Compuestos bioactivos de las plantas

Son metabolitos secundarios producidos por el metabolismo de las plantas, sirven como constituyentes nutricionales adicionales, estos se encuentran en pequeñas cantidades y son utilizados para su alimentación y supervivencia, pueden provocar una amplia gama de diversos efectos tanto en las personas como en los animales, debido a que muchos de estos compuestos tienen actividad farmacológica, lo cual conlleva a evaluar su efecto beneficiosos sobre la salud. ⁽¹⁷⁾

2.2.6.1 Compuestos del metabolismo primario

Los metabolitos primarios son muy abundantes en la naturaleza, son indispensables para el desarrollo y alimentación de la planta, estos se encuentran en grandes cantidades, entre estos se encuentran, los carbohidratos, lípidos, hormona, vitaminas, enzimas, entre otras, por ende, son vitales para los procesos de las plantas. Su extracción es fácil, y su

explotación es barata. Estos metabolitos conducen a la síntesis de los metabolitos secundarios. ^(18, 19)

2.2.6.2 Compuestos del metabolismo secundario

Los metabolitos secundarios son compuestos químicos derivados del metabolismo primario, estos cumplen múltiples funciones, teniendo que intervenir en interacciones ecológicas de la planta con su ambiente, para lograr la protección de depredadores herbívoros, bacterias, virus y hongos. Son de gran importancia por ser principios activos en medicamentos y otros productos químicos por ejemplo de nutraceuticos. Estos metabolitos por sus actividades farmacológicas han producido el aumento de su uso terapéutico cada día, y hasta son utilizados en elaboraciones de fitofármacos o fármacos. ⁽²⁰⁾

Las plantas poseen un metabolismo secundario que les permite producir compuestos diversos que sirven para la supervivencia de esta, están agrupados en 4 clases; terpenos, compuestos fenólicos, glicósidos y alcaloides. Suelen utilizarse de diversas formas, desde el uso medicinal, hasta colorantes e insecticidas. ⁽²¹⁾

2.2.7 Compuestos fenólicos

El término “compuestos fenólicos” engloban a toda sustancia que presentan varias funciones fenol, como nombre común del hidroxibenceno, las cuales están unidas a estructuras alifáticas o aromáticas. Solamente, algunos compuestos fenólicos pertenecientes de la familia de los ácidos fenólicos no están considerados como polifenoles, sino como monofenoles. ²²⁾

Son uno de los grupos de los metabolitos secundarios con mayor significancia en plantas medicinales, ya que son considerados esenciales fisiológicamente porque contribuyen en su morfología, en su crecimiento y su producción. Asimismo, los compuestos fenólicos tienen que ver en los mecanismos de defensa de plantas medicinales ante agentes externos. ⁽²³⁾

Estos compuestos son uno de los principales metabolitos secundarios que están presentes en las plantas, por lo que tienen su origen en el mundo vegetal, estos pasan a ser sintetizados de novo por las plantas, estos son reguladores de manera genética a nivel cualitativo y cuantitativo. También, actúan como fitoalexinas, para poder defenderse de posibles ataques microbianos durante alguna lesión, así mismo también hacen una contribución en la pigmentación de diversas partes de la planta. ⁽²²⁾

2.2.7.1 Clasificación de los polifenoles

Los polifenoles se pueden clasificar de diversas maneras de acuerdo a su diversidad estructural. De acuerdo a la estructura química se tiene 2 grandes grupos:

- No flavonoides: conformado por 2 subgrupos.

Los fenoles no carboxílicos: C₆, C₆-C₁, C₆-C₃ y los ácidos felones, los cuales están derivados del ácido benzoico C₆-C₁ y del ácido cinámico C₆-C₃

- flavonoides

Estos están constituidos por 2 grupos bencénicos, unidos por un puente tricarbonado, formado por subgrupos: antocianos, flaonas,

flavonoles, flavononoles, flavononas, flavanoles, taninos condensados y lignanos. ⁽²²⁾

2.2.7.2 Flavonoides

Sustancias que poseen un bajo peso molecular, son producidos por la gran mayoría de las plantas. Presentan una extraordinaria actividad bioquímica y farmacológica en los hombres. Algunas de sus principales funciones de los flavonoides son su actividad antiinflamatoria y antioxidante. ⁽²⁴⁾

2.2.7.2.1 características químicas

La estructura básica de los flavonoides consta de dos anillos aromáticos bencénicos, unidos por una cadena lineal 3 carbonos (C6-C3-C6), estos pueden formar o no un tercer anillo. Cada anillo tiene una denominación A, B y C, los átomos son referidos por un sistema numérico, utiliza número primarios para el anillo B y números ordinarios para el anillo A y C. ⁽²⁴⁾

2.2.7.2.2 Clasificación

Los flavonoides se clasifican según su estructura, generado por una sustitución en el anillo C de su estructura base, siendo de suma importancia el sitio de union del anillo B con el benzopiridono, los cambios son generados por el proceso de oxidación, glicosilación, reducción, dando la formación de los diversos tipos de flavonoides. Los flavonoides usado farmacológicos son las antocianidinas, flavanoles, flavanonas, flavonoles, flavonas e isoflavonas. ⁽¹⁸⁾

- Antocianidinas:

son flavonoides pigmentados responsable en su mayoría de los colores de frutos y flores, son importantes para la polinización de las plantas y la dispersión de las semillas, carecen de azúcar. ⁽²¹⁾

- Flavanoles:

Los flavanoles se caracterizan por la ausencia del grupo carbonilo en el C-4, y presentan un grupo hidroxilo (OH) en la posición C-3, estos se pueden encontrar en forma de monómeros, oligómeros y polímeros. ⁽²⁵⁾

- Flavanonas

Las flavanonas se encuentran de forma muy común glicosiladas en la posición 7. ⁽²⁵⁾

- Flavonoles

la quercetina, siendo uno de los flavonoles más abundantes en las plantas, posee un grupo carbonilo en la posición 4 y un grupo hidroxilo (-OH) en la posición 3 del anillo C. ⁽²⁶⁾

- Flavonas

Las flavonas derivan de la venzo-pirona, presentan un grupo carbonilo en la posición 4 del anillo C, pero carecen de un grupo hidroxilo en la posición 3. ⁽²⁶⁾

- Isoflavonas

Las isoflavonas presentan el anillo B en la posición 3, la mayoría se encuentran en plantas como la soya. En su mayoría son estrógenos vegetales. ⁽¹⁸⁾

2.2.7.2.3 Actividad farmacológica de los flavonoides

Los flavonoides, están considerados como uno de los metabolitos secundarios más importantes, ya que presentan las siguientes actividades farmacológicas. ⁽²⁷⁾

Cuando estos son ingeridos a través de las verduras ejercen una actividad antimicrobiana, ya que permiten la eliminación de bacterias, virus entre otros, también ayudan a reducir el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, otro beneficio es su capacidad antioxidante en el organismo humano. Actúan protegiendo contra la inflamación y potencian la acción de otras sustancias activas. ⁽²⁸⁾

2.2.8 Método espectrofotométrico

El fundamento de la espectrofotometría se debe a la capacidad de las moléculas de absorber radiaciones, las radiaciones del espectro UV-visibles, la longitud de una onda que la molécula puede absorber y la eficiencia con la que absorben dependerá de la estructura y las condiciones del medio, por lo cual esta técnica constituye un valioso método para la determinación y caracterización de biomoléculas. ⁽²⁹⁾

2.2.9 Extracto

El extracto es un preparado concentrado que suele ser de consistencia líquida, sólida o intermedia, derivado del material vegetal desecado, este se obtiene al ser evaporado de forma parcial o total el disolvente. Los

extractos pueden ser según su consistencia y concentración del principio activo, extractos secos, blandos, fluidos. ⁽³⁰⁾

III. HIPÓTESIS

Implícita

IV. METODOLOGIA

4.1. Diseño de la investigación

El tipo de Investigación es Básico, bajo un enfoque cuantitativo. Nivel de Investigación descriptivo. Diseño de tipo no experimental.

4.2. Población y muestra

Población: Conjunto de hojas y tallos de *Verbena litoralis* “verbena”. Obtenida en el Centro Poblado Casa Colorada, Distrito de Santa, Provincia Del Santa, Departamento Áncash.

Muestra: Se empleo 100g de hojas y 100g de tallos de *Verbena litoralis*, recolectada en el Centro Poblado Casa Colorada, Distrito de Santa, Provincia Del Santa, Departamento de Ancash.

Criterios de Inclusión:

Hojas y tallos en buen estado vegetativo de *Verbena litoralis*.

Criterios de Exclusión:

Hojas y tallos que se encuentren en un mal estado vegetativo de *Verbena litoralis*.

Holas y tallos que presentan proliferación de macroorganismos.

4.3. Definición y operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores
Contenido de flavonoides del extracto metanólico de las hojas y tallos de <i>Verbena litoralis</i> “Verbena”.	Cuantificación de Flavonoides Totales	Conteo de Flavonoides Totales por el método de Liu y Col. Mediante valores de absorbancia a través de un espectrofotómetro.	•Total de gramos de flavonoides totales (mg de catequina eq./g de muestra seca).

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

4.4.1 Recolección de la muestra

Se recolecto 100g de hojas y 100g de tallos de *Verbena litoralis* “Verbena” del centro poblado Casa Colorada, Distrito de Santa, Provincia Del Santa, Departamento de Ancash.

4.4.2 Identificación y determinación taxonómica de la especie

Un ejemplar de la muestra en análisis se utilizó para la identificación taxonómica en el Herbario Antenor Orrego (HAO) de la Universidad Particular Antenor Orrego.

(Anexo 1)

4.4.3 Preparación de la muestra vegetal

Selección: Se selecciono las hojas y tallos que se encontraban en buen estado.

Lavado: Se procedió a lavar la hojas y tallos con agua Tipo II.

Secado:

- **Hojas:** las hojas son colocadas en papel craft, se procedió a secar a 40°C por 12 horas en una estufa.
- **Tallos:** los tallos son colocados en papel craft, se procedió a secar a 50°C por 48 horas en una estufa.

Pulverización: Una vez secada las hojas y los tallos se pulverizaron.

Almacenamiento: El polvo de las hojas y tallos se colocaron en bolsas y se mantuvieron refrigeradas para mantener su buen estado hasta el momento de la extracción.

4.4.4 Preparación del extracto metanólico-MeOH 80%

Se utilizó 0.2519g de muestra vegetal previamente y pulverizada de hojas, y 0.5288g de muestra vegetal previamente y pulverizada de tallos, cada muestra se colocó dentro de un tubo falcon, se agregó 15 mL de metanol al 80% + 0.1 de ácido fórmico, se envolvió con papel aluminio para proteger de la degradación a los flavonoides que puedan ser fotosensibles, luego se llevó a un agiotador magnético por 30 min. Seguidamente se llevó a la centrifuga por un tiempo de 5 minutos a una velocidad de 6000 rpm. En fiolas de 50 mL se agregó el sobrenadante, el proceso de extracción se repitió 3 veces, se aforo y se procedió a colocar el extracto dentro de un congelador a una temperatura de -8°C hasta el momento de su análisis respectivo.

4.4.5 Determinación de flavonoides totales

En una fiola de 5 mL se adicionaron 2.5 mL de agua Tipo II, luego se añadió estándar de catequina a concentraciones de 0.5; 1; 2.5; 5; 7.5 y 10 ppm ($\mu\text{g/mL}$) para la obtención de la curva de calibración y a las demás fiolas se agregó 150 μL del extracto metanólico del tallo y 50 μL del extracto metanólico de hojas, después se adicionó 150 μL de NaNO_2 al 5% se dejaron reposar 6 minutos. Se adicionó 300 μL de AlCl_3 al 10% y se dejó reposar 5 minutos. Después de esto se agregó 1 mL de NaOH 1M y finalmente se completó el volumen de cada fiola con agua Tipo II. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro UV-Vis a 510 nm antes de los 30 minutos. Se realizó el ensayo por triplicado. ⁽³¹⁾

Las absorbancias de los estándares y las muestras obtenidas del espectrofotómetro fueron registradas en una ficha de recolección de datos para luego ser procesadas.

Los resultados fueron expresados en mg de catequina por gramos de muestra seca (mg de catequina eq./g de muestra seca).

4.4. Plan de análisis

Los datos obtenidos se procesaron mediante el programa Microsoft Excel, obteniendo la medida, la desviación estándar y la regresión lineal para elaboración de la curva de calibración de los estándares.

4.5. Matriz de consistencia

Título de la investigación	Enunciado	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación	Variables	Metodología
Cuantificación de flavonoides del extracto metanólico de hojas y tallos de <i>verbena litoralis</i> “Verbena”	¿El extracto metanólico de hojas y tallos de <i>Verbena litoralis</i> presentarán flavonoides totales?	<p>Objetivo General</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cuantificar flavonoides totales del extracto metanólico de hojas y tallos de <i>Verbena litoralis</i> “Verbena”. <p>Objetivos Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar el contenido de flavonoides totales en el extracto metanólico de las hojas de <i>Verbena litoralis</i> “Verbena”. • Determinar el contenido de flavonoides totales en el extracto metanólico de los tallos de <i>Verbena litoralis</i> “Verbena” 	Implícita	Estudio de tipo no experimental	<p>VARIABLE</p> <p>Contenido de flavonoides del extracto metanólico de las hojas y tallos de <i>Verbena litoralis</i> “Verbena”</p>	Cuantificación de flavonoides totales utilizando el método espectrofotométrico

4.6. Principios éticos

En esta investigación se consideró la veracidad y la autenticidad como aspectos importantes de los datos obtenidos y reflejados en la investigación, asegurando que los resultados fueron reales, no alterados o plagiados. Se priorizó el cuidado de la especie en estudio y del medio ambiente.

V. RESULTADOS

5.1. Resultados

Tabla 1: cantidad de flavonoides totales expresado como mg de catequina eq/g de muestra seca en el extracto metanólico de hojas y tallos de *Verbena litoralis*.

Especie	Parte de la planta	Tipo de extracto	Flavonoides totales (mg de catequina eq./g de muestra seca)
<i>Verbena litoralis</i>	Hojas	Metanólico	24.18 ± 1.09
“Verbena”	Tallos	Metanólico	0.82 ± 0.14

En la tabla N° 1. respecto a la cantidad de flavonoides totales expresado como catequina en el extracto metanólico de hojas y tallos de *Verbena litoralis*, la cantidad mayor de flavonoides totales expresados mg de catequina eq./g de muestra seca, se encuentran en las hojas, ya que presentan 24.18 ± 1.09 mg de catequina eq./g de muestra seca a diferencia de los tallos que presentan una cantidad baja de flavonoides totales 0.82 ± 0.14 mg de catequina eq./g de muestra seca.

5.2. Análisis de resultados

En esta investigación se estudió las hojas y tallos de *Verbena litoralis*, para lo cual se realizó el extracto metanólico. En la que se determinó el contenido de flavonoides totales, utilizando el método de Liu y Col.

En la tabla 1 podemos observar el resultado de la cuantificación de flavonoides totales expresados mg de catequina eq./g de muestra seca, obteniendo los valores de 24.18 ± 1.09 mg de catequina eq./g de muestra seca en hojas y 0.82 ± 0.14 mg de catequina eq./g de muestra seca en tallos, para esto se utilizó la técnica espectrofotométrica, en donde se utiliza la catequina como muestra patrón.

En la investigación de Tipantuña C ⁽¹⁸⁾, Contenido de flavonoides totales y actividad antioxidante en inflorescencias, hojas y tallos de plantas endémicas: *Verbena litoralis* Kunth y *Duranta triacantha* Juss. Como resultado se puede evidenciar que los extractos hidroalcohólicos de inflorescencias, hojas y tallos de *Verbena litoralis* Kunth presentan flavonoides totales, de 0,204 mg eq/ml de extracto en hojas, siendo mayor que en inflorescencias y tallos con concentraciones de 0.134 y 0.041 mg eq/ml de extracto. Pudiendo decir que este estudio confirma la presencia de flavonoides totales en *Verbena litoralis*.

Garrido, et al. ⁽³²⁾ realizó un estudio de Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. Phil. Como resultado se pudo observar que el extracto obtenido por metanol presentó una concentración de flavonoides totales de $115,8 \pm 10,8$ mg EQ/g muestra seca siendo mayor que del extracto de agua, con concentración de $72,8 \pm 2,3$ mg EQ/g muestra seca en hojas de *L. medicinalis* en esta especie de la familia Verbenaceae.

Por otra parte, siendo *Verbena litoralis* K. de la misma familia Verbenaceae demostró que tiene un alto contenido de flavonoides totales, con una concentración de 24.18 ± 1.09 mg de catequina eq./g de muestra seca en hojas mayor que la de tallos con 0.82 ± 0.14 mg de catequina eq./g de muestra seca, en una solución metanólica siendo de la misma solución al igual que de la investigación realizada por Garrido et al, que utilizaron solventes metanol y agua, siendo estos solución de polaridad alta, lo que se puede decir que este estudio confirmo que en la misma familia de Verbenaceae hay flavonoides con mayor promedio de ser polares.

Los flavonoides son compuestos que brindan un gran beneficio para la salud de las personas, hay diversas investigaciones que lo respaldan. Siendo estos compuestos químicos de gran importancia ya que cumplen un rol en la prevención y cura de diferentes enfermedades y afecciones.

VI. CONCLUSIONES

- Se determinó el contenido de flavonoides totales en el extracto metanólico de las hojas de *Verbena litoralis*, obteniéndose 24.18 ± 1.09 mg de catequina eq./g de muestra seca.
- Se determinó el contenido de flavonoides totales en el extracto metanólico de los tallos de *Verbena litoralis*, obteniéndose 0.82 ± 0.14 mg de catequina eq./g de muestra seca, convirtiéndose en una fuente de flavonoides y consigo trae diversas propiedades ya demostradas.

RECOMENDACIÓN

1. realizar investigaciones de otros compuestos bioactivos que puedan estar presente en la planta estudiada.
2. Realizar estudios sobre la caracterización química de los flavonoides y poder identificar los tipos de flavonoides presentes en la planta en estudio.
3. seguir realizando investigaciones de esta planta, y otras plantas endémicas, hasta poder puntualizarlas en libros botánicos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Bussmann R. Traditional medicinal plant use in Northern Peru: tracking two thousand years of healing culture. [internet]. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine; 2006. [citado el 12 de junio del 2019]; 2:1-18. Disponible en: <https://ethnobiomed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-4269-2-47>
2. Foy E. Plantas autóctonas del Perú: sus aplicaciones en la medicina tradicional. [internet]. en: Foy Valencia; 2003. [citado el 12 de junio del 2019]; 1: 1-17 Disponible en: <http://peru.inka.free.fr/peru/pdf/medicina.pdf>
3. Morcelle M. Stem and leaf anatomy of six species of Verbena native to Buenos Aires province, Argentina. [internet]. 2011. (citado el 12 de junio del 2019). Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/0028825X.2011.616209>
4. Martino V. Los Flavonoides como Promisorios Agentes Preventivos y Terapéuticos. [internet]. New Zealand Journal of Botany; 2012. [citado el 12 de junio del 2019]; 50: 3-14. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/19/4/LAJOP_19_4_3_1_34V5L4749H.pdf
5. Rengifo D. ESTUDIO FITOQUÍMICO CUALITATIVO PRELIMINAR Y CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES Y TANINOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Desmodium vargasianum* Schubert. [internet]. Revista de la Sociedad Química del Perú, 2018 [Citado el 21 de abril del 2021], 84(2), 175-182. Disponible en: <http://revistas.sqperu.org.pe/index.php/revistasqperu/article/view/139>

6. Silverio C. DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDEOS Y GLUCÓSIDOS EN Verbena litoralis. [Tesis]. Universidad de Guayaquil. Facultad de Unidad de Posgrado, Investigación y Desarrollo. 2016. [Citado el 01 de junio 2019]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/23111/1/T-UG-PG-DP-MBM-00003.pdf>
7. De Lima R. CONTROLE DE QUALIDE E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE VERBENA LITORALIS KUNTH. [Tesis]. Universidad Federal de Santa Maria. Ciencias Farmacéuticas. 2013. [Citado el 01 de junio 2019]. Disponible en: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/5972/LIMA%2c%20RACHEL%20DE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
8. Braga V, Mendes G, Oliveira R, Soares C, Resende C, Pinto L. et al. Actividades de micropropagación, antinociceptivos y antioxidantes de extractos de Verbena litoralis Kunth (Verbenaceae). [Internet]. Un. Acad Brasieres Ciênc. 2012 [citado el 13 de junio de 2019]; 84 (1): 139-148. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/aabc/v84n1/aop0912.pdf>
9. Souza T, Manfron M, Zanetti G, Hoelzel S, Pagliarin V. Análise Morfo-Histológica e Fitoquímica de Verbena litoralis Kunth. [internet]. Acta Farm. Bonaerense; 2005. [Citado el 01 de jun 2019]; 24 (2): 209-14. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/24/2/LAJOP_24_2_1_7_N000S9D1VY.pdf
10. Quispe M, Rojas A. Actividad Antioxidante del Extracto Alcohólico de Hojas de Verbena litoralis Kunth (Verbena) en Iquitos, Loreto, Perú. [Tesis]. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Facultad de Farmacia y

- Bioquímica. 2013. [Citado el 01 de jun 2019]. Disponible en:
http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4405/Milagros_Tesis_Titulo_2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y
11. Lezcano J. Cubas J. Identificación y dosaje de flavonoides, taninos y alcaloides en verbena cimarrona. [Tesis]. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2014. [Citado el 01 de jun 2019]. Disponible en:
<http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/323>
12. Alvarado B. Actividad antioxidante y citotóxica de 35 plantas medicinales de la Cordillera Negra. [tesis]. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS;2017. [Citado el 1 de junio 2019]. Disponible en:
http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/02/879811/actividad-antioxidante-y-citotoxica-de-35-plantas-medicinales-d_OE9Ywr3.pdf
13. Loja B. CONTRIBUCION AL ESTUDIO FLORISTICO DE LA PROVINCIA DE CONCEPCION, (JUNIN): DICOTILEDONEAS. [tesis]. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS; 2002 [Citado el 1 de junio 2019]. Disponible en:
http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/basic/loja_h_b/t_completo.pdf
14. Tello G. ETNOBOTÁNICA DE PLANTAS CON USO MEDICINAL EN LA COMUNIDAD DE QUERO, JAUJA, REGIÓN JUNÍN”. [tesis]. UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA; 2015 [Citado1 de junio 2019]. Disponible en:
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1886/F70.T64-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

15. Ordinola C. Corroto F. Barrena C. Cucho M. Mejía F. Uso de plantas medicinales para el síndrome febril por los pobladores del Asentamiento Humano Pedro Castro Alva del distrito de Chachapoyas (Chachapoyas – Perú). [internet]. Arnaldoa; 2019. [Citado el 21 de abril del 2021]; 26 (3): 1033-1046. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2413-32992019000300012&script=sci_arttext&tIng=en
16. Huamán L. EXTRACTO ACUOSO DE VERBENA (*Verbena officinalis* L.) EN LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS CUTÁNEAS INDUCIDAS EN CUYES. [tesis]. Universidad Agraria de la Selva. 2013. [citado el 21 de abril del 2021]. Disponible en: <https://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/788/TZT-553.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
17. Barba F, Esteve M, Frígola A. Capítulo 11 - Componentes bioactivos de productos vegetales de hoja. [internet]. ELSEVIER; 2014. [Citado el 1 de junio 2020]; 41:321-346. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444632944000115?via%3Dihub>
18. Tipantuña C. Contenido de flavonoides totales y actividad antioxidante en inflorescencias, hojas y tallos de plantas endémicas: *Verbena litoralis* Kunth y *Duranta triacantha* Juss. [tesis]. Universidad Central del Ecuador. 2019. [citado el 4 de junio del 2020]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/19952?mode=full>
19. Vázquez O. Aislamiento de metabolitos secundarios de la corteza de *Spondias purpurea* L. [tesis]. Universidad Nacional Autónoma de México, 2014. [citado

- el 21 de abril del 2021]. Disponible en: https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis_vazquez_cortes_oscar.pdf
20. Rojas L. Jaramillo C. Lemus M. Métodos Analíticos para la Determinación de Metabolitos Secundarios de Plantas. [Internet]. Ecuador; 2015 [Citado el 21 de abril del 2021]. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/6653>
21. Avalos A. Perez E. Metabolismo secundario de las plantas. [internet]. Reduca; 2009. [citado el 4 de junio del 2020]; 2 (3): 119-145. Disponible en: https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=metabolitos+secundarios+de+plantas&oq=+metabolitos+secundarios+de+#d=gs_qabs&u=%23p%3DvzbrH7UqS_UJ
22. Gimeno E. Compuestos fenólicos Un análisis de sus beneficios para la salud. [Internet]. Revista Offarm, 2004 [Citado el 21 de abril del 2021]; 23 (6):80-84. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13063508>
23. Granado A. Estudio de los mecanismos de acción molecular de polifenoles de la dieta en cultivos celulares y animales de experimentación. [Tesis]. Universidad Complutense De Madrid; 2010. [citado el 21 de abril del 2021]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/11142/>
24. Cortaya O. Reynaldo I. FLAVONOIDES: CARACTERISTICAS QUÍMICAS Y APLICACIONES. [internet]. Cultivos tropicales. 2001. [citado el 4 de junio del 2020]; 22 (2):5-14. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193215009001.pdf>

25. Puebla P. Guerrero M. Correa. Flavonoides del género Croton. [internet]. Rev. Colom. Cienc; 2004. [citado el 4 de junio del 2020]; 33 (1):77-85. Disponible en:
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/1665/2323>
26. Martínez S. González J. Culebras J. Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. [internet]. Nutr. Hosp. 2002. [citado el 4 de junio del 2020]; 17 (6):271-278. Disponible en:
<http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>
27. Ruiz W. Determinación de los fitoconstituyentes, cuantificación de polifenoles y actividad antioxidante de la *Dalea strobilacea* Barnedy (HIERBAICHIL) [Tesis]. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote; 2019. [citado el 4 de junio del 2020]. Disponible en:
<http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/11472>
28. Hernández S. Marino L. Isern, D. Coria, I. Irurzun, I. FLAVONOIDES: APLICACIONES MEDICINALES E INDUSTRIALES. [internet]. 2019. [citado el 4 de junio del 2020]. Disponible en:
29. Diaz N. Barcena A. Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomolécula. [internet]. 2004. [citado el 4 de junio del 2020]; 1:1-8. Disponible en: https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf
30. Carrión A, García C. “PREPARACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES: DETERMINACIÓN DE EFICIENCIA DE METÓDICA. [Tesis].

UNIVERSIDAD DE CUENCA, 2010. [citado el 21 de abril del 2021].

Disponible

en:

<https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>

31. García R, Aguilar L, Soto M, Nieto R, Kite G. COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES, FLAVONOIDES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN LAS FLORES DE *Crataegus* spp. DE MÉXICO. *Phil. [Internet]. Universidad Autónoma Chapingo*. 2012. [Citado el 03 de junio 2020]; 46(7): 651-662.

Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v46n7/v46n7a2.pdf>

32. Garrido J, Ortiz M, Pozo P. Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. *Phil. [Internet]. J Pharm Pharmacogn Res*. 2013. [Citado el 03 de junio 2020]; 1(1): 30-38.

Disponible en:

http://jppres.com/jppres/pdf/vol1/1_1_30.pdf

VIII. ANEXOS

ANEXO N°1



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 41-2019-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que Sandra Abigail Abanto Aguilar, estudiante de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote ha depositado en este herbario la especie:

Verbenaceae

Verbena litoralis Kunth.

Se expide la presente constancia a solicitud de los interesados para los fines que correspondan.

Trujillo, 19 de Noviembre de 2019

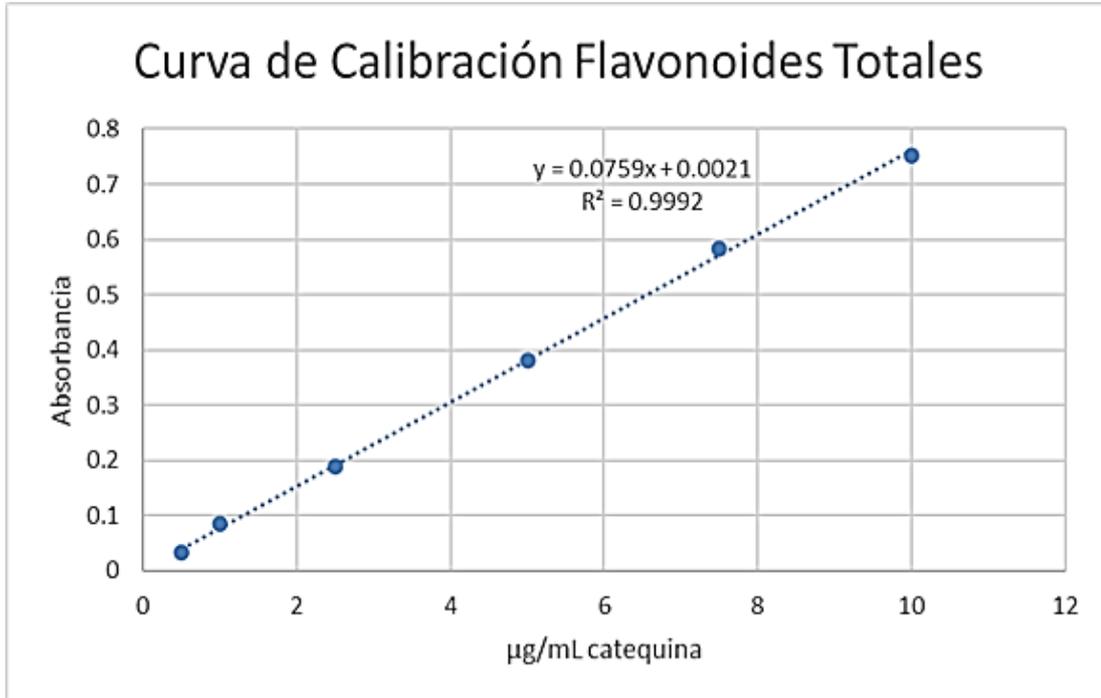

Mg. Segundo Leiva González

Director

Museo de Historia Natural y Cultural



ANEXO N°2



CUANTIFICACION_FLAVONOIDES_ABANTO_AGUILAR_SANDR...

INFORME DE ORIGINALIDAD

11%

INDICE DE SIMILITUD

11%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

ENCONTRAR COINCIDENCIAS CON TODAS LAS FUENTES (SOLO SE IMPRIMIRÁ LA FUENTE SELECCIONADA)

27%

★ repositorio.uladech.edu.pe

Fuente de Internet

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 4%

Excluir bibliografía

Activo