



Estructura química de compuestos fenólicos del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panisara”

Toche Tuesta Analucía¹, Curay Carhuamaca Vianella Lizet¹, Díaz Barrientos Renzo¹, Fernández Rebaza Gustavo Adolfo¹, Bonilla Rivera Pablo Enrique¹

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 02/09/2017

Aprobado: 30/09/2017

Autor correspondal

Gustavo Adolfo Fernández Rebaza
gustav.unnsm@gmail.com
(511) 991895544

Conflictos de interés

Ninguno

Financiamiento

Autofinanciado

Citar como

Toche Tuesta A, Curay Carhuamaca VL, Díaz Barrientos R, Fernández Rebaza GA, Bonilla Rivera PE. Estructura química de compuestos fenólicos del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panisara”. Rev Peru Med Integrativa.2017;2(3):803-9.

RESUMEN

Objetivos. Proponer la estructura química de componentes fenólicos aislados del extracto etanólico de hojas de *Satureja pulchella* “panisara”, quien en la actualidad presenta el nombre de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts y evaluar preliminarmente el posible efecto antioxidante de los compuestos fenólicos. **Materiales y métodos.** Se realizó una identificación fitoquímica mediante ensayos de solubilidad, tamizaje fitoquímico, cromatografía en capa fina y espectroscopia UV/VIS. Por otro lado, se realizó un ensayo preliminar de la actividad antioxidante usando la prueba de 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH). **Resultados.** Se determinó que el extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panisara” es soluble en solventes polares. Los metabolitos secundarios encontrados son compuestos fenólicos tipo flavonoides, alcaloides, quinonas y glicosidos. Se propone siete estructuras químicas de flavonoides a través del análisis de los espectros UV/Vis, y mediante comparación con lo publicado por TJ Mabry y Olga Lock. Al realizar el ensayo preliminar de la actividad antioxidante usando la prueba de 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH) se observó disminución de absorbancia, al aplicar el extracto frente al control. **Conclusiones.** Se propone la estructura química de 7 metabolitos secundarios tipo flavonas que podrían explicar una posible acción antioxidante del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panisara”.

Palabras clave: *Clinopodium pulchellum*, flavonas, tamizaje, cromatografía, espectroscopia UV/Vis. (Fuente: DeCS)

Chemical structure of phenolic compounds of the ethanolic extract of leaves of *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “Panisara”

ABSTRACT

Objectives. To propose the chemical structure of isolated phenolic components of the ethanolic extract of the leaves of *Satureja pulchella* “panisara”, which at present presents the name of *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts and preliminarily evaluate the possible antioxidant effect of the phenolic compounds. **Materials and methods.** Phytochemical identification was carried out by means of solubility tests, phytochemical screening, thin layer chromatography and UV / VIS spectroscopy. On the other hand, a preliminary test of antioxidant activity was performed using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) test. **Results.** It was determined that the ethanolic extract of leaves of *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panisara” is soluble in polar solvents. The secondary metabolites found are phenolic compounds such as flavonoids, alkaloids, quinones and glycosides. Seven chemical structures of flavonoids are proposed through the analysis of the UV / Vis spectra, and by comparison with that published by TJ Mabry and Olga Lock. When performing the preliminary test of the antioxidant activity using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) test, a decrease in absorbance was observed when the extract was applied to the control. **Conclusions.** The chemical structure of 7 secondary flavone metabolites are proposed, which could explain the possibility of some antioxidant action of the ethanolic extract of the leaves of *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panisara” was evaluated.

Keywords: *Clinopodium pulchellum*, flavones, screening, chromatography, UV/Vis spectroscopy (Source: MeSH)

¹ Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara”, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.

Introducción

El amplio reconocimiento científico ha generado un mayor consumo de alimentos ricos en antioxidantes, que redundan en claros beneficios para la salud de la población. Estos beneficios se traducen, por ejemplo, en prevención y tratamiento de algunas enfermedades relacionadas con el corazón, el cerebro y los pulmones, pues son órganos muy sensibles al daño oxidativo ⁽¹⁾. Se incluye la prevención primaria de dislipidemia, diabetes, obesidad, y la prevención secundaria de angina de pecho, afección vascular periférica, enfermedad cerebrovascular, entre otros ⁽²⁾.

Los antioxidantes se clasifican según su origen, en este caso el origen exógeno, entre ellos está la vitamina C o ácido ascórbico, al α -tocoferol o vitamina E, los betacarotenos, y los polifenoles, estos últimos de interés en esta investigación ⁽³⁾.

Los polifenoles dan cuenta de la riqueza antioxidante de la mayor parte de los alimentos de origen vegetal habitualmente consumidos por la población ⁽⁴⁾. Todos los polifenoles exhiben en su estructura, uno o más grupos hidroxilos unidos a un anillo aromático ⁽⁵⁾. Entre los polifenoles es posible distinguir dos tipos de compuestos: los flavonoides, cuya estructura comprende dos anillos aromáticos unidos un heterociclo de tres átomos de carbono y uno de oxígeno (C6-C3-C6), y los llamados no-flavonoides que comprenden, mayormente, alcoholes monofenólicos, ácidos fenólicos y estilbenos ^(6,7).

Los polifenoles son componentes importantes de la actividad antioxidante de muchas plantas medicinales ⁽⁸⁾. El Perú tiene una gran diversidad de plantas medicinales, muchas de ellas con propuesta y algunas demostrada actividad antioxidante ⁽⁹⁾. *Satureja pulchella* “panisara”, quien en la actualidad presenta el nombre de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts, es una planta oriunda del norte peruano ⁽¹⁰⁾, utilizada comúnmente para dolencias gastrointestinales ⁽¹¹⁾ y retrasos menstruales ⁽¹²⁾. Estudios previos han mostrado la capacidad antioxidante y antibacteriana tanto de extractos acuosos como de aceites esenciales ^(11,13).

En la siguiente investigación se propuso la estructura química de componentes fenólicos aislados del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panisara” y evaluó preliminarmente el posible efecto antioxidante de los compuestos fenólicos.

Materiales y métodos

Descripción botánica de la especie

Arbusto erguido, poco ramificado, de 1–1,5 m de alto, tallos cuadrangulares en corte transversal un tanto pilosos. Hojas

opuestas, pecioladas, lámina simple, de forma deltoidea, cara inferior densamente pubescente. Inflorescencia emerge de la axila de cada hoja, y ellas con pocas flores con pétalos de color anaranjado. Envoltura floral (cáliz y corola) pentámeras, zigomorfas. Corola tubular, arqueada, el ápice terminado en cinco lóbulos de ápice obtuso. Androceo formado por cinco estambres más largos que la longitud de la corola ⁽¹⁴⁾.

Preparación del extracto etanólico

La especie vegetal fue recolectada en la provincia de Santiago de Chuco, La Libertad, durante el mes de septiembre de 2017; su identificación taxonómica se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, como *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panisara” (constancia 279- USM-2017).

Posteriormente, se procedió a la selección de muestras en buen estado de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panisara”; las cuales fueron limpiadas y secadas a temperatura ambiente. Seguidamente, se secaron en una estufa (40 °C) con lo que se consiguió la reducción de tamaño del material vegetal. Finalmente, las hojas trituradas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panisara” fueron almacenadas de acuerdo a lo descrito por Lock et al. ⁽¹⁵⁾.



Figura 1. Muestra de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panisara”

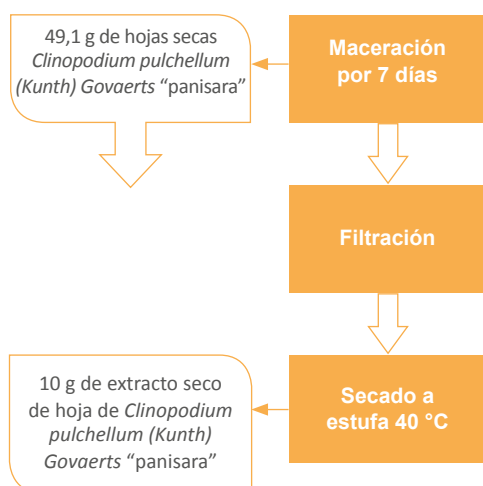


Figura 2. Proceso de elaboración del extracto

Ensayo de solubilidad

El extracto etanólico seco (5 mg) se trató con solventes de polaridad creciente ⁽¹⁵⁾ (Tabla 1).

Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico consiste en un conjunto de reacciones de coloración y precipitación que se realizó para detectar los componentes químicos ⁽¹⁵⁾ del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara" (Tabla 2).

Cromatografía en capa fina (CCF)

Se realizó cromatografía en capa fina analítica del extracto etanólico de hojas, se sembró la muestra del extracto y luego se desarrolló con el sistema de solventes cloroformo:metanol (3:1). Se reveló la cromatopla de silicagel 60-G a la lámpara de luz UV 365 nm, 254 nm y con el revelador FeCl_3 ⁽¹⁵⁾.

Actividad atrapadora del radical 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH)

Este ensayo evalúa la capacidad de un antioxidante para reducir el radical DPPH. El compuesto 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH) es un radical estable que presenta una coloración violeta intensa y que absorbe radiación a 517 nm, por lo que su concentración se puede determinar por métodos espectrofotométricos. En el ensayo se determinó la concentración inicial de DPPH y la concentración resultante una vez que se ha añadido el posible antioxidante, de forma que una disminución de la absorción de radiación se traduce en una disminución de la concentración de DPPH debido a la cesión de electrones de la especie antioxidante ⁽¹⁶⁾.

Determinación de estructuras químicas

Luego de realizar la cromatografía en capa fina (CCF) a escala preparativa, se procedió a la desorción de las manchas correspondientes. Estas fueron leídas en el espectrofotómetro UV/vis Thermo scientific GENESYS 10S ⁽¹⁵⁾.

Las estructuras de componentes químicos aislados de naturaleza fenólica del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara" se proponen mediante lecturas al espectrofotómetro y fueron comparadas con las estructuras publicadas por TJ Mabry (1970) ⁽¹⁷⁾.

Resultados

El extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara" presentó una buena solubilidad en metanol y etanol (Tabla 1).

Tabla 1. Solubilidad del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara"

Solvente	Resultado
Agua destilada	-
Metanol	+++
Etanol	+++
n- Butanol	++
Cloroformo	+

+++ : Soluble, ++ : parcialmente soluble, + : poco soluble, - : insoluble

Al realizar el tamizaje fitoquímico del extracto se encontró una gran cantidad de compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides y quinonas (Tabla 2).

Al realizar la cromatografía en capa fina utilizando el sistema cloroformo:metanol (3:1) y revelado en luz UV 365 nm y 254 nm, se encontraron quince manchas determinándose el factor de retención en cada mancha (Figura 3).

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara"

Metabolito	Reacción	Cantidad
Carbohidratos	Rx. Molisch	++
Compuestos fenólicos	FeCl_3	+++
Taninos	Gelatina	+
Flavonoides	Rx. Shinoda	+++
Aminoácidos libres y grupos amino	Ninhidrina	+
Alcaloides	Rx. Dragendorff	+++
	Rx. Mayer	+++
Naftaquinonas, antraquinonas y antranas	Rx. Borntrager	+++

+++ : Abundante; ++ : regular; + : poco; - : ausencia

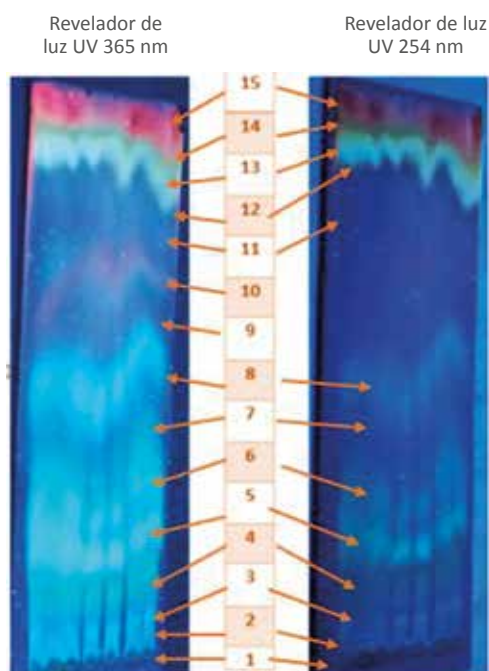


Figura 3. Cromatografía en capa fina del extracto etanólico a la luz UV 365 nm y 254 nm

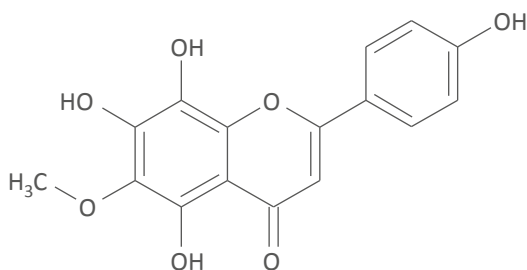
Se encontró que las estructuras con mayor factor de retención fueron la 3', 4' 5, 6, 7-pentahidroxiflavona y 5, 7, 8-trihidroxi-3', 4', 6-trimetoxiflavona. Las estructuras de componentes químicos aislados propuestas se encuentran en la Figura 4.

Al realizar la actividad antioxidante por DPPH, la solución de DPPH registró una absorbancia de 0,545 a una longitud de onda de 517 nm y al emplearse 300 µg de extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara" en el ensayo, se registró 0,060 de absorbancia a la misma longitud de onda.

Discusión

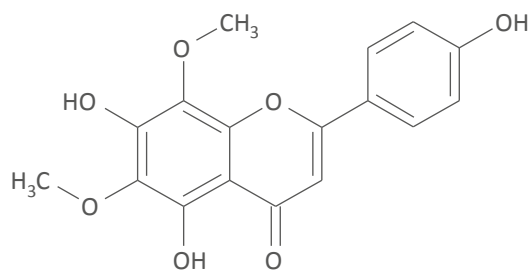
El extracto etanólico de hojas de *Satureja pulchella* "panisara", que en la actualidad presenta el nombre de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts fue soluble en solventes de mediana polaridad, poco soluble en solventes apolares, e insoluble en solventes polares. De acuerdo con la investigación de Bonilla *et al.* al realizar marcha de solubilidad, se estableció que el extracto alcohólico de *Satureja sericea* (goyal) contiene componentes solubles en alcoholes y agua^(18,19), lo cual indica que son de alta polaridad,

Muestra 1 $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtoH}}$ 288,324 nm, Rf=0



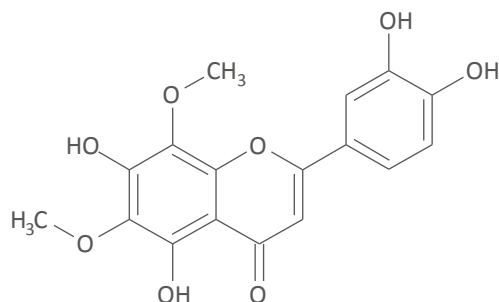
4', 5, 7, 8 - Tetrahidroxi - 6 - Metoxiflavona

Muestra 2 $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtoH}}$ 286,330 nm, Rf=0,0374



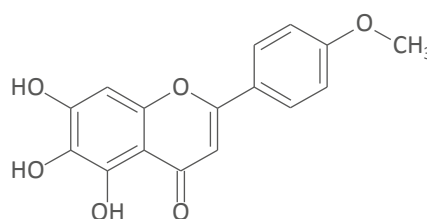
4', 5, 7, 8 - Trihidroxi - 6, 8 - Dimetoxiflavona

Muestra 4 $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtoH}}$ 284,346 nm, Rf=0,1283

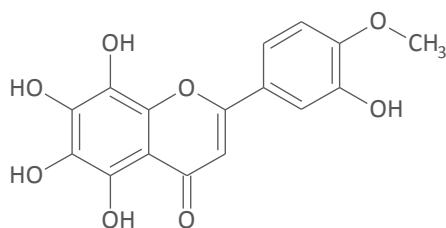


3', 4', 5, 7 - Tetrahidroxi - 6, 8 - Dimetoxiflavona

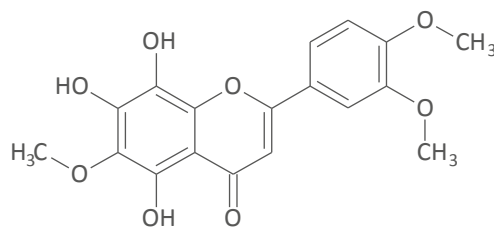
Muestra 5 $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtoH}}$ 282,321 nm, Rf=0,1925



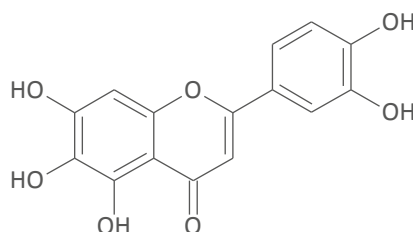
5, 6, 7 - Trihidroxi - 4' - Metoxiflavona

Muestra 6 $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtoH}}$ 295,340 nm, Rf=0,2513

4', 5, 6, 7, 8 - Pentahidroxi - 3' - Metoxiflavona

Muestra 12 $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtoH}}$ 288,335 nm, Rf=0,8824

5, 7, 8 - Trihidroxi - 3', 4', 6 - Trihmetoxiflavona

Muestra 15 $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtoH}}$ 288,335 nm, Rf=0,9733

3', 4', 5, 6, 7 - Pentahidroxi - flavona

Figura 4. Estructuras químicas propuestas de compuestos fenólicos del extracto etanólico de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara"

al ser del mismo género comparten la característica de ser solubles en alcoholes; no obstante, el extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara" es insoluble en agua.

El extracto estudiado presentó flavonoides, compuestos fenólicos y alcaloides, de manera similar a lo encontrado en *Scutellaria havanensis* Jacq. (familia Lamiaceae) ⁽²⁰⁾. Asimismo, Kemertelidze *et al.* encontraron en el extracto acuoso de *Satureja hortensis* L. una gran cantidad de polifenoles, específicamente flavonoides ⁽²¹⁾. De forma similar, el extracto acuoso de *Satureja montana*, tuvo proporciones altas de compuestos fenólicos, especialmente de ácido cafeico y rutina ⁽²²⁾. Por lo que se puede inferir, que los resultados obtenidos por nuestro estudio tienen concordancia con lo encontrado en otras especies de la misma familia, que también poseen actividad antioxidante ⁽²³⁾.

Además, Lizarraga *et al.*, realizan un estudio muy similar al nuestro, usando cromatografía en capa fina utilizando el revelador de tricloruro férrico (FeCl_3), en *Satureja boliviana* (Benth.) Briq. (Lamiaceae), donde también se reafirma el hallazgo de compuestos fenólicos ⁽²⁴⁾.

Las siete estructuras propuestas de flavonoides mediante lecturas al espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific GENESYS 10S presentan naturaleza medianamente polar; y algunas de estas estructuras ya han sido evaluadas previamente. Por ejemplo, el 5,7,4'-trihidroxi-6,8-dimetoxiflavona ha sido encontrado en extractos de *Baccharis grisebachii* y es responsable de inhibir la lipoperoxidación de eritrocitos ⁽²⁵⁾. De manera similar, la 5,6,7-trihidroxi-4'-metoxiflavona ha sido encontrada en los extractos clorofórmicos de las hojas de *Chuquiraga lessing* "huamanpinta", y en las cascarras de *Musa cavendishii* "plátano", el cual tiene importancia en las propiedades antioxidantes de ambas especies vegetales y antiinflamatorias e inmunomoduladoras de *Chuquiraga lessing* ^(26,27).

En esta investigación se realizó un ensayo preliminar de actividad antioxidante por DPPH ⁽¹⁶⁾, revelándose la posible actividad antioxidante del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara". Esto refuerza lo sugerido por estudios previos, donde se encontró actividad antioxidante del aceite esencial de *Satureja pulchella* ⁽¹¹⁾ y del extracto etanólico de *Satureja macrostema* ⁽¹⁶⁾. Futuros trabajos deben estudiar la magnitud, en forma objetiva, de la capacidad antioxidante de esta especie vegetal.

En conclusión, se propone la estructura química de siete metabolitos secundarios tipo flavonas (4',5,7,8 – tetrahidroxi-6-metoxiflavona, 4',5,7-trihidroxi-6,8-dimetoxiflavona, 3',4',5,7-tetrahidroxi-6,8-dimetoxiflavona, 5,6,7 –trihidroxi-4'-metoxiflavona,

4',5,6,7,8-pentahidroxi-3'-metoxiflavona, 5,7,8-trihidroxi-3',4',6-trimetoxiflavona y 3',4',5,6,7-pentahidroxiflavona) que podrían explicar un posible efecto antioxidante del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panisara”.

Referencias bibliográficas

- Kumar S. The importance of antioxidant and their role in pharmaceutical science- a review. *Asian J Res Chem Pharm Sci.* 2014;1(1):27–44.
- Gutiérrez V, R J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cuba Med Mil.* junio de 2002;31(2):126–33.
- Sen S, Chakraborty R, Reddy UYSR, Biplab D. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2010;3(1):91–100.
- Vásquez C, De Cos A, López-Nomdedeu. Alimentación y nutrición, manual teórico-práctico. 2.ª ed. España: Editorial Díaz de Santos; 2005. 115 p.
- Primo E. Química orgánica básica y aplicada, de la molécula a la industria. Vol. 2. España: Editorial Reverté; 1995. 915 p.
- Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp.* febrero de 2012;27(1):76–89.
- Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Rémésy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr.* 1 de enero de 2005;81(1):230S–242S.
- Haslam E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *J Nat Prod.* 1996;59(2):205–15.
- Berłowski A, Zawada K, Wawer I, Paradowska K. Antioxidant Properties of Medicinal Plants from Peru. *Food Nutr Sci.* 26 de julio de 2013;04(08):71.
- Bussmann RW, Sharon D, Lopez A. Blending Traditional and Western Medicine: Medicinal Plant Use Among Patients at Clínica Anticona in El Porvenir, Peru. 2007 [citado 21 de noviembre de 2017]; Disponible en: <http://scholarspace.manoa.hawaii.edu/handle/10125/230>
- Yance MC, G SL, Lm FV, R LI, P RY, C NC. Composición química, actividad antioxidante y toxicidad aguda del aceite esencial de *Satureja pulchella* “panisara”. *Theorêma Lima Segunda Época En Línea.* 13 de junio de 2016;0(1):57–63.
- Bussmann RW, Glenn A. Medicinal plants used in Northern Peru for reproductive problems and female health. *J Ethnobiol Ethnomedicine.* 1 de noviembre de 2010;6:30.
- Bussmann RW, Ashley G, Sharon D, Chait G, Diaz D, Pourmand K, et al. Proving that Traditional Knowledge Works: The antibacterial activity of Northern Peruvian medicinal plants. *Ethnobot Res Appl.* 2 de marzo de 2011;9(0):067–96.
- Galán A, Sánchez I. Principios de botánica farmacéutica. Cajamarca: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2013. 49-50 p.
- Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2.ª ed. Lima: Fondo Editorial PUCP; 1994. 98-102 p.
- Alonso Carrillo N. Actividad antioxidante de *Satureja macrostema* [Internet] [Thesis]. 2010 [citado 21 de noviembre de 2017]. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx:8080/xmlui/handle/123456789/5823>
- The Systematic Identification of Flavonoids | Tom Mabry | Springer [Internet]. [citado 21 de noviembre de 2017]. Disponible en: <http://www.springer.com/gp/book/9783642884603>
- Bonilla P, Arroyo J, Lozano N, Beltrán H, Alba A, Aguedo J, Tinco L, Ríos F. Composición química y actividad farmacológica del extracto etanólico de *Satureja sericea* (goyal). *Ciencia e Investigación* 14 de mayo de 2014;14(1):15–21.
- Aguedo J, Tinco L, Ríos F, Bonilla P, Arroyo J. Efecto gastroprotector de los flavonoides del extracto etanólico de las partes aéreas de *Satureja sericea* (goyal). *Ciencia e Investigación* 14 de mayo de 2014;11(2):35–45.
- Marrero Delange D, Rico M, L C, Canavaciolo G, L V, Salas Oliver E, et al. Tamizaje fitoquímico de *Scutellaria havanensis* Jacq. *Rev Cuba Plantas Med.* diciembre de 2012;17(4):402–7.
- Kemertelidze ÉP, Sagareishvili TG, Syrov VN, Khushbaktova ZA. Chemical Composition and Pharmacological Activity of Garden Savory (*Satureja hortensis* L.) Occurring in Georgia. *Pharm Chem J.* 1 de junio de 2004;38(6):319–22.
- Gião MS, Pereira CI, Fonseca SC, Pintado ME, Malcata FX. Effect of particle size upon the extent of extraction of antioxidant power from the plants *Agrimonia eupatoria*, *Salvia* sp. and *Satureja montana*. *Food Chem.* 1 de diciembre de 2009;117(3):412–6.

23. Saeidnia S, Gohari AR, Manayi A, Kourepaz-Mahmoodabadi M. *Satureja*: Ethnomedicine, Phytochemical Diversity and Pharmacological Activities. Springer; 2015. 119 p.
24. Lizarraga E, Abdala LR. Compuestos fenólicos mayoritarios en *Satureja boliviiana* (Benth.) Briq. (Lamiaceae). Acta Farm Bonaer [Internet]. 2004 [citado 22 de noviembre de 2017];23, n° 2. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10915/6640>
25. Tapia AA, Schmeda-Hirschmann G (Prof G. Atrapadores de radicales libres y Antioxidantes de *Baccharis grisebachii*, *Cymbopogon citratus* y *Tagetes mendocina* [Internet] [Thesis]. Universidad de Talca (Chile). Instituto de Química de Recursos Naturales.; 2005 [citado 22 de noviembre de 2017]. Disponible en: <http://dspace.utalca.cl/handle/1950/6241>
26. Ramírez E, Bonilla P, Suarez S, Choquesillo F, Castro A. Actividad antioxidante, antiinflamatoria e inmunomodulador del extracto clorofórmico de las hojas de *Chuquiraga lessing* "huamanpinta". Cienc E Investig. 20 de marzo de 2015;17(1):37–42.
27. Alva G, Mirtha D. Detección de los flavonoides de la cáscara de plátano (*Musa cavendishii*) y su aplicación en un derivado lácteo. Univ Nac Callao [Internet]. 2014 [citado 22 de noviembre de 2017]; Disponible en: <http://repositorio.unac.edu.pe/handle/UNAC/957>