



Determinación de fitoconstituyentes y evaluación de la actividad catártica en el extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (huachangana)

 Daniel Ñañez¹, Luis M. Félix², Walter Rivas¹ Maribel Mendoza¹, Ernesto R. Torres³.

Información del artículo

Historia del artículo

 Recibido: 25/06/2018
 Aprobado: 18/07/2018

Autor corresponsal

 Walter Rivas Altez
 wrivas0307@gmail.com

Financiamiento

Autofinanciado

Conflictos de interés

Ninguno

Citar como

 Ñañez D, Félix LM, Rivas W, Mendoza M, Torres ER. Determinación de fitoconstituyentes y evaluación de la actividad catártica en el extracto hidroalcohólico del tubérculo *Euphorbia huachanhana* (huachangana). Rev Peru Med Integrativa. 2018;3(2):71-7.

Resumen

Objetivo. Determinar los fitoconstituyentes del extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss (huachangana) y evaluar su actividad catártica. **Materiales y métodos.** Se elaboró un extracto hidroalcohólico con etanol al 70% (70:30) del tubérculo fresco de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss (huachangana), el cual fue analizado mediante un perfil fitoquímico cualitativo y el uso de espectroscopia UV/V y espectroscopia infrarroja (IR). Se tuvieron 36 ratones albinos, distribuidos en seis grupos de seis cada uno: Grupo I, suero fisiológico 0,9%; Grupo II, control positivo (senósido 250 mg/kg), y Grupos III, IV, V y VI (experimentales) a los que se les administró el extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss (EH) a dosis 200 mg/kg, 400 mg/kg, 600 mg/kg y 800 mg/kg. Se evaluó la actividad catártica mediante la frecuencia de defecación y el porcentaje de motilidad intestinal con administración de carbón activado al 10%. **Resultados.** Se evidenció la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, carbohidratos, taninos, esteroides, azúcares reductores, aminoácidos y antraquinonas. Mediante espectroscopia UV/V se tuvo una banda de absorción de 290 nm lo que corresponde a una antraquinona; por espectroscopia infrarroja (IR) se evidenció la presencia de grupos hidroxilo y carbonilo. La mayor frecuencia de defecación (7,7 por hora) y el mejor tránsito intestinal (92,3%) fueron encontrados en el grupo que recibió EH a 200 mg/kg, estas diferencias fueron significativas en comparación al grupo blanco ($p < 0,05$). **Conclusiones.** Se encontró, como molécula de interés, la presencia de una antraquinona con grupos funcionales hidroxilo y carbonilo; asimismo, la administración del extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss a dosis de 200 mg/kg ofreció los mejores resultados en actividad catártica. Sin embargo, el diseño utilizado no permite establecer que la presencia de estas moléculas son la causa directa del efecto catártico observado.

Palabras clave: Motilidad gastrointestinal; Animales de experimentación; Euphorbiaceae/química; Euphorbiaceae/uso terapéutico. (Fuente: DeCS)

Determination of phytoconstituents and evaluation of cathartic activity of *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss (huachangana) hydroalcoholic extract

Abstract

Objective. To determine the phytoconstituents of the *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss (huachangana) tuber hydroalcoholic extract and to evaluate its cathartic activity. **Materials and methods.** An hydroalcoholic extract was elaborated with 70% ethanol (70:30) using fresh tuber of *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss (huachangana). That extract was analyzed for its phytochemical profile, and by UV/V spectroscopy and infrared spectroscopy (IR) to search some bioactive molecules. Thirty-six albino mice were distributed in six groups of six each one: Group I, 0.9% saline solution; Group II, Positive Control (Sennoside 250 mg/kg); and Groups III, IV, V and VI (Experimental) to which hydroalcoholic extract of *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss (EH) were administered at doses 200 mg/kg, 400 mg/kg, 600 mg/kg and 800 mg/kg. The cathartic activity was evaluated by frequency of defecation and percentage of intestinal motility with administration of 10% activated carbon. **Results.** Presence of flavonoids, phenolic compounds, carbohydrates, tannins, steroids, reducing sugars, amino acids and anthraquinones was evidenced. An absorption band of 290 nm was observed by UV / V spectroscopy and infrared spectroscopy (IR), which corresponds to an anthraquinone, and the presence of hydroxyl and carbonyl groups was evidenced. The highest frequency of defecation (7.7 per hour) and the best intestinal transit (92.3%) were found on group which received EH at 200 mg/kg, these differences were statistically significant in comparison to the 0.9% saline solution group ($p < 0.05$). **Conclusions.** The presence of an anthraquinone with hydroxyl and carbonyl groups was found as a molecule of interest. Additionally, the administration of *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss hydroalcoholic extract at a dose of 200 mg / kg gave the best cathartic activity. However, this experimental design does not allow establishing that the presence of these molecules are the direct cause of the observed cathartic effect.

Keywords: Gastrointestinal motility; Animal Experimentation; Euphorbiaceae/analysis; Euphorbiaceae/therapeutic use (Source: MeSH).

¹ Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM

² Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad Norbert Wiener.

³ Facultad de Farmacia y Bioquímica-U. San Luis Gonzaga-Ica.

Introducción

La constipación o estreñimiento se define como la disminución de la frecuencia normal de la deposición, con o sin dificultad para realizar esta actividad ^[1]. Se estima que afecta a aproximadamente al 14% de la población mundial, siendo más común en mujeres, personas mayores de 65 años, o personas con un bajo estatus socioeconómico ^[2]. Los casos de constipación mayormente se clasifican como primarios, dentro de los cuales se pueden identificar tres subtipos: funcional, de tránsito retardado o de desórdenes defecatorios, asociados con la percepción de defecación incompleta debido a patologías como la enfermedad de Hirschsprung, la estenosis anal, disfunción del suelo pélvico, cáncer o prolapsos ^[3,4].

Dentro de las causas asociadas a los dos primeros subtipos, se ha encontrado ausencia de contracciones propulsoras en el colon, lo cual puede ir ligado tanto al aumento como a la disminución de las contracciones segmentadas. Por ende, cualquier alternativa terapéutica que promueva la regulación del tránsito intestinal podrá ser útil para el manejo de estos casos ^[5]. Actualmente, el manejo terapéutico de estos casos se basa en cambios en el estilo de vida, promoviendo la actividad física y el consumo de líquidos, fibras y de medicamentos procinéticos, o con efecto laxante ^[1,6].

La *Euphorbia huanchahana* (Klotzsch & Garcke) Boiss (huachangana), pertenece a la familia Euphorbiaceae las cuales producen una gran diversidad de sustancias químicas, incluyendo los aceites de tung y de ricino. Aunque muchas de estas plantas son purgantes, incluso venenosas en algunos casos, los frutos y las raíces tuberosas son comestibles y son parte importante de la alimentación de algunas poblaciones ^[7]. *Euphorbia huachanhana* es una hierba anual que cuando se la rasga o secciona, segrega látex de consistencia espesa, muy adherente, que se endurece rápidamente adquiriendo un color amarillento ^[8]. Estudios previos han reportado su uso medicinal en comunidades de Ayacucho ^[9] y de Cusco ^[10], mientras que en la investigación de Salazar *et al.* se reporta que en comunidades de Cajamarca se prepara mediante el cocimiento de la raíz triturada con leche caliente, para ser usada como antiparasitario ^[11].

A pesar de ello, no se han encontrado estudios que evalúen los posibles efectos biológicos de esta especie en modelos animales (*in vivo*). Por ello, los objetivos de la presente investigación fueron determinar los fitoconstituyentes del extracto hidroalcohólico del tubérculo *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss (huachangana) y

evaluar su actividad catártica en ratones albino machos jóvenes (*Mus musculus*).

Materiales y métodos

Material vegetal

La recolección del tubérculo *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss (huachangana) se realizó en el anexo de Vichavichay, provincia Castrovirreyña, región Huancavelica, durante el mes de mayo del año 2009

Preparación del extracto hidroalcohólico ^[12]

La muestra fue llevada a un ambiente ventilado libre de contaminantes en el laboratorio de investigación de la Universidad Privada Norbert Wiener (UPNW), se seleccionó 2000 g de tubérculos frescos enteros en buen estado, que fueron macerados en etanol al 70% (70:30), durante siete días. Al término de este periodo se filtró el macerado con papel de filtro 4 y se llevó hasta sequedad a 40 °C obteniendo la cantidad de 100 g de extracto seco.

Estudio de los fitoconstituyentes

El estudio fitoquímico se realizó con la finalidad de determinar los diferentes metabolitos primarios y secundarios del extracto seco, solubilizando la muestra en metanol ^[13]. Se evaluó la solubilidad del extracto seco utilizando 1 mL de los solventes: agua destilada, etanol, metanol, n-butanol, acetato de etilo, cloroformo, acetona, éter de petróleo y n-hexano, de acuerdo a su polaridad ^[14].

Análisis cromatográficos y de espectroscopia

Para la ejecución de la cromatografía en capa fina se utilizó sílica gel G 60 como sistema de solvente, revelándose con el reactivo de Borntrager. Seguidamente, para lograr el aislamiento de componentes de importancia biológica, se realizó un aislamiento por cromatografía en capa fina a escala preparativa. Para ello, se contó con un espectrofotómetro GENESYS 10S UV/visible y un espectrofotómetro IR MEDIO SPECTRUM 100, Marca Perkin Elmer.

Animales de experimentación

Se emplearon 36 ratones albinos (*Mus musculus*) con un peso promedio de 20-25 g de 04 semanas de edad, adquiridas y certificadas como exentas de patología alguna por el Instituto Nacional de Salud (INS). Se colocó un ratón por jaula, a temperatura ambiente (22 ± 5 °C), con ciclo de luz/oscuridad de 12 h. Recibieron alimentación balanceada y agua *ad libitum* durante diez días. Todos los procedimientos que abarcaron a los animales fueron conducidos de acuerdo

con el protocolo aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Determinación de la acción catártica (laxante) y motilidad intestinal

Los animales de experimentación fueron divididos en seis grupos de seis ratones, de acuerdo a la intervención que recibieron: Grupo I: Blanco (suero fisiológico 0,9%); Grupo II: Control Positivo (senósido 250 mg/kg), y Grupos III, IV, V y VI (experimentales) a los que se les administró el extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss a dosis 200 mg/kg, 400 mg/kg, 600 mg/kg y 800 mg/kg. Las intervenciones antes mencionadas fueron administradas por vía oral [15]. Se midió la frecuencia de defecación cada hora, durante las cuatro primeras horas posteriores a la administración de las intervenciones.

Transcurridas las 4 h, se administró carbón activado al 10%; pasados 30 min, se sacrificó a los animales por dislocación cervical, realizándose disección tipo laparotomía para extraer el intestino delgado, desde la porción pilórica hasta el colon; en ese momento, se midió la distancia recorrida del carbón activado. Finalmente se midió la motilidad gastrointestinal en porcentajes [motilidad GI (%)] mediante el uso de carbón activado a los 30 min, en cada grupo con el uso de la siguiente ecuación.

$$\text{Motilidad GI (\%)} = \frac{\text{Distancia recorrida por carbón activado}}{\text{Longitud total del intestino delgado}} \times 100\%$$

Análisis estadístico

Los datos recolectados fueron digitados en una base de datos elaborada con el programa Microsoft Excel 2016®. Se utilizó estadística descriptiva, donde los datos fueron mostrados mediante el uso de frecuencias absolutas y relativas (porcentajes), en el caso de variables cualitativas y a través de medidas de tendencia central y de dispersión (promedios y desviación estándar) en el caso de variables cuantitativas. Para establecer diferencias entre los porcentajes de motilidad intestinal y los grupos de estudio se usará la prueba ANOVA para dos factores con medidas repetidas. Se considerará como estadísticamente significativo un valor p menor de 0,05.

Resultados

El extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss, mostró una alta solubilidad en metanol, mientras que tuvo solubilidad parcial en etanol y agua (Tabla 1).

Tabla 1. Prueba de Solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss

Solventes	Solubilidad
Agua destilada	+
Metanol	++
Etanol	+
n-butanol	-
Acetato de etilo	-
Cloroformo	-
Acetona	-
Éter de petróleo	-
n-hexano	-

(-) Insoluble; (+) poco soluble; (++) soluble.

Por otro lado, durante el análisis fitoquímico del mencionado extracto, se encontraron flavonoides, taninos, carbohidratos, esteroides, grupos aminos libres y antraquinonas, y azúcares reductores.

La cromatografía en capa fina a escala preparativa permitió aislar la fracción 1 (F1), que presentó color rojo violáceo a luz natural y fluorescencia amarilla bajo UV - 365 nm, intensificándose dicho color al ser revelado con el reactivo de Borntrager. Esta fracción fue sometida a un análisis espectroscópico con luz UV/V, en donde se identificó una banda de 290 nm, entre las longitudes de 260 – 300 nm, lo que confirma la presencia de una antraquinona (Figura 1).

Tabla 2. Metabolitos primarios y secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss

Reactivos	Metabolitos primarios y secundarios	Resultados
AlCl ₃ 1%	Flavonoides	+
Shinoda	Flavonoides	+
FeCl ₃ 1%	Compuestos fenólicos	+
Gelatina 1%	Taninos	+
Molish	Carbohidratos	+
Fehling	Azúcares reductores	+
Dragendorff	Alcaloides	-
Mayer	Alcaloides	-
Popoff	Alcaloides	-
Liebermann-Bouchard	Esteroides	+
Wagner	Alcaloides	-
Ninhidrina	Grupos aminos libres	+
Borntrager	Antraquinonas	+

Leyenda: ausencia (-) presencia (+)

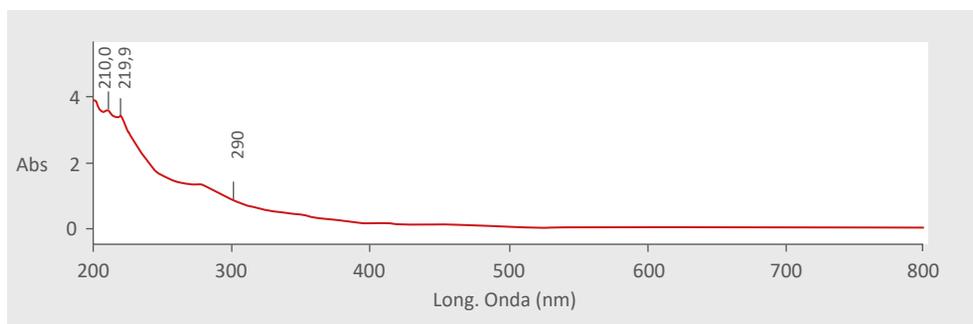


Figura 1. Espectro UV/V de la fracción 1 (F1) aislado utilizando como solvente MeOH (longitud de onda 200-800 nm).

En este análisis espectroscópico de IR se reportan absorciones entre 3200 cm^{-1} -3600 cm^{-1} que indican la presencia de alcoholes; a 2850 cm^{-1} - 2970 cm^{-1} grupos alcanos, y los grupos carbonilo a 1610 cm^{-1} -1680 cm^{-1} , por debajo de 1500 cm^{-1} es la región de las huellas dactilares, que confirman la presencia de los grupos funcionales (Figura 2).

En la determinación de la frecuencia de defecaciones, se encontraron diferencias significativas entre los grupos de

estudio ($p < 0,05$), con un mayor promedio de defecaciones en el grupo que recibió extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss en dosis de 200 mg/kg (7,7 deposiciones/hora); en comparación con el grupo control (7,2 deposiciones/hora), y las dosis de 400, 600 y 800 mg/kg (5,2; 4,7 y 1 deposiciones/hora, respectivamente) (Figura 3).

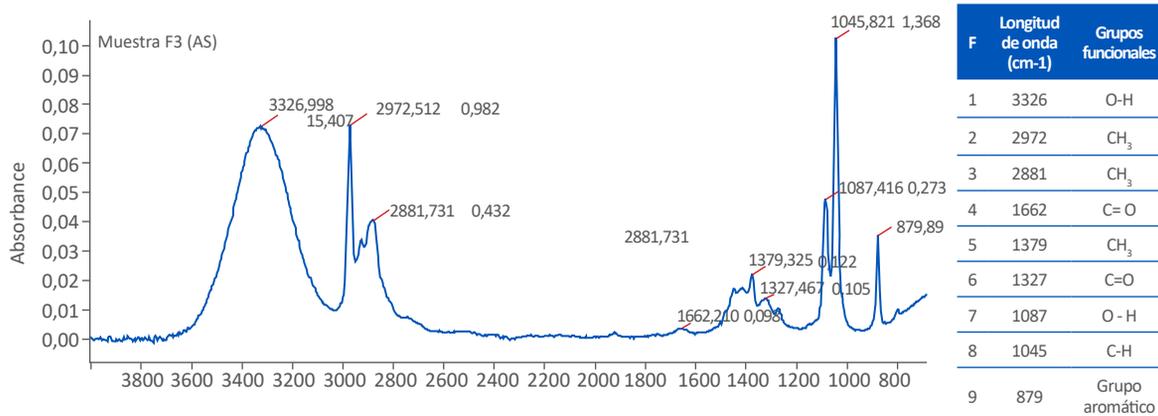


Figura 2. Análisis espectroscópico de infrarrojos en la fracción 1 (F1) del extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss

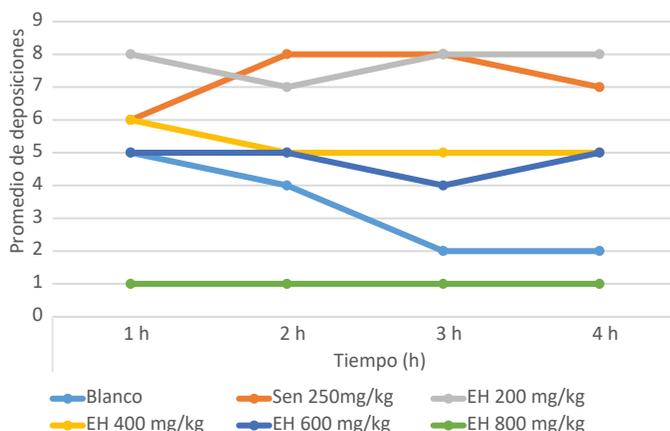


Figura 3. Promedio de deposiciones por hora y grupo de estudio. Sen: senósido; EH: extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss.

Tabla 4. Acción catártica del extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss según grupos de estudio y sujetos de experimentación

Grupo	EH 200 mg/kg			Blanco			Senósido 200 mg/kg		
	Med 1 (cm)	Med 2 (cm)	%	Med 1 (cm)	Med 2 (cm)	%	Med 1 (cm)	Med 2 (cm)	%
1	56	55	98,2	45	30	66,6	52	42	80,7
2	53	42	79,2	50	36	72,0	53	47	88,6
3	48	45	93,7	47,5	35	73,6	56	47	83,9
4	56	56	100,0	46	21,5	46,7	48	45	93,7
5	49	45	91,8	47	32,5	69,1	52	45	86,5
6	57	32	91,2	48	22	45,8	52	48	92,3
Media	53,2	45,8	92,3	47,2	29,5	62,3	52,2	45,7	87,6
Desv. St.	3,9	8,9	7,3	1,7	6,3	12,7	2,5	2,2	4,9

Med 1= longitud total del intestino delgado; Med 2= longitud recorrida por el carbón activado; Desv. St= desviación estándar.

En la determinación de la actividad sobre la motilidad gastrointestinal, se encontró que el grupo que recibió el extracto hidroalcohólico a dosis de 200 mg/kg, tuvo un porcentaje de motilidad intestinal de $92,3\% \pm 7,3\%$, muy superior a lo mostrado por el estándar (senósido 200 mg/kg). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0,001$); sin embargo, al realizar la comparación por pares, no se encontró diferencias entre el grupo experimental y el control ($p = 0,753$) (Tabla 4).

Discusión

La prueba de solubilidad demuestra que el extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss. contiene constituyentes químicos de naturaleza polar, lo cual se ve favorecido con el uso de un solvente como el etanol. Altemimi *et al.* [16] refieren que este tipo de solventes promueven la caracterización fitoquímica de componentes con múltiples efectos biológicos como los fenoles.

Gracias al análisis espectrofotométrico se determinó una fracción de interés (F1) en donde se demostró la presencia de antraquinonas. Estas moléculas son definidas como quinonas que poseen dos anillos fenólicos asociados a su estructura típica, esta estructura contribuye con sus propiedades redox, lo que le da potencial antioxidante [17]. Las antraquinonas, además, poseen otros efectos biológicos como la inhibición de la proliferación de células tubulares, disminución del crecimiento fúngico y la modulación de reacción inflamatoria por medio de la inhibición parcial de la ciclooxigenasa [18,19].

Asimismo, estos componentes son conocidos por su importante papel en la generación de efectos tipo laxante (o catárticos), Darroz *et al.* [20] postulan tres posibles mecanismos de acción: 1) La estimulación directa de contracción en el músculo liso intestinal; 2) Inhibición de reabsorción de agua por la inactivación de la bomba de $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPasa}$; y 3) Inhibición de canales de cloro.

Si bien el diseño experimental utilizado no permite asociar en forma causal la presencia de antraquinonas y el efecto catártico encontrado en la administración del extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss; la revisión bibliográfica ha permitido encontrar que este efecto es común a otros miembros del género *Euphorbia*. Hare *et al.* [21] hallaron que el uso de extractos acuosos de hojas de *Euphorbia hirta*, en dosis de 100 a 1000 mg/kg, producían una disminución de la motilidad intestinal (medida como los efectos en frecuencia de defecación) en ratones albinos. En forma similar, Ashok *et al.* [22] encontraron que la administración de raíces pulverizadas de *Euphorbia fusiformis* Buch.- Ham. Ex D. Don en dosis de 130 mg/kg y 260 mg/kg, disminuían significativamente el tiempo de tránsito intestinal en comparación al grupo control, atribuyendo este efecto a un antagonismo de los receptores D2 y 5-HT3, lo que estimularía el vaciamiento gástrico. Por ende, el presente estudio confirma un efecto que es común en otras especies similares, pero en un insumo que puede ser fácilmente evaluado de forma local, lo que facilitaría futuras investigaciones.

Este estudio experimental presenta múltiples limitaciones; por ejemplo, como se mencionó previamente, se pudo aislar un componente con potencial efecto biológico, pero el modelo experimental no permitió establecer una relación causal entre este hallazgo y lo observado en la motilidad intestinal

del modelo animal. En segundo lugar, al ser este un estudio que puede ser calificado como preliminar, sus resultados no pueden ser generalizados a la población en general. Asimismo, los resultados de esta investigación no son suficientes para permitir la extrapolación de los efectos encontrados a seres humanos. Sin embargo, demuestran que la *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss "huachangana", es una especie de interés para promover futuras investigaciones

que ayuden a una mejor caracterización de sus efectos, tanto terapéuticos como tóxicos.

Se concluye que el extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huachanhana* (Klotzsch & Garcke) Boiss "huachangana" presenta componentes de interés como las antraquinonas, y posee un efecto catártico a dosis de 200 mg/kg en ratones albinos.

Referencias bibliográficas

- Paquette IM, Varma M, Ternent C, Melton-Meaux G, Rafferty JF, Feingold D, et al. The American Society of Colon and Rectal Surgeons' Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Constipation. *Dis Colon Rectum* 2016;59(6):479–92.
- Suares NC, Ford AC. Prevalence of, and risk factors for, chronic idiopathic constipation in the community: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2011;106(9):1582–91; quiz 1581, 1592.
- Foxx-Orenstein AE, McNally MA, Odunsi ST. Update on constipation: one treatment does not fit all. *Cleve Clin J Med* 2008;75(11):813–24.
- Ford AC, Moayyedi P, Lacy BE, Lembo AJ, Saito YA, Schiller LR, et al. American College of Gastroenterology monograph on the management of irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation. *Am J Gastroenterol* 2014;109 Suppl 1:S2-26; quiz S27.
- Collins BR, O'Brien L. Prevention and management of constipation in adults. *Nurs Stand* 2015;29(32):49–58.
- Costilla VC, Foxx-Orenstein AE. Constipation: understanding mechanisms and management. *Clin Geriatr Med* 2014;30(1):107–15.
- Ernst M, Grace OM, Saslis-Lagoudakis CH, Nilsson N, Simonsen HT, Rønsted N. Global medicinal uses of *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae). *J Ethnopharmacol* 2015;176:90–101.
- Miñano Zavaleta A. Evaluación taxonómica y ecogeográfica de las especies vegetales del área de pasivos ambientales mineros en ticapampa - Ancash, Perú con fines de fitorremediación [Internet]. 2009 [citado 2018 oct 4]; Available from: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/5408>
- Hurtado-Huarcaya J, Albán J. Conocimiento tradicional de la flora silvestre en las comunidades campesinas del Santuario Histórico de la Pampa de Ayacucho (Quinua, Ayacucho, Perú). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 2018;17(3):286–301.
- De Feo V, Urrunaga Soria R. Medicinal plants and phytotherapy in traditional medicine of Paruro Province, Cusco department, Peru. 2012;154–219.
- Salazar W, Cárdenas J, Núñez M, Fernández I, Villegas L, Pacheco L, et al. Estudio fitoquímico y de la actividad antihelmíntica de los extractos de *Euphorbia huachanhana* y *Baccharis salicifolia*. *Revista de la Sociedad Química del Perú* 2007;73(3):150–7.
- Arroyo J, Cisneros C. Modelos experimentales de investigación farmacológica. Facultad de Medicina Humana. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2012.
- Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. [Internet]. 2002; Available from: <https://es.scribd.com/doc/125194922/METODOS-D>
- Gibaja Oviedo S. Pigmentos naturales quinónicos. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1998.
- Dominguez XA. Métodos de investigación fitoquímica. México, D.F.: Limusa; 1973.
- Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson DG, Lightfoot DA. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants (Basel)* [Internet] 2017 [citado 2018 may 24];6(4). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5750618/>
- Peñarrieta JM, Tejada L, Mollinedo P, Vila JL, Bravo JA. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química* 2014;31(2):68–81.
- Yarnell E. CHAPTER 11 - Plant Chemistry in Veterinary Medicine: Medicinal Constituents and Their Mechanisms of Action [Internet]. En: Wynn SG, Fougère BJ, editores. *Veterinary Herbal Medicine*. Saint Louis: Mosby; 2007 [citado 2018 nov 12]. página 159–82. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323029988500159>

19. Chan K, Lin TX. Chapter 48 - Treatments used in complementary and alternative medicine [Internet]. En: Aronson JK, editor. Side Effects of Drugs Annual. Elsevier; 2009 [citado 2018 nov 12]. página 745–56. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378608009031481>
20. Darroz JV, Fuso LC, Borges NM, Gomes AJPS. Utilização de fitoterápicos no tratamento de constipação intestinal. Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR [Internet] 2015 [citado 2018 nov 12];18(2). Available from: <http://revistas.unipar.br/index.php/saude/article/view/5176>
21. Hore SK, Ahuja V, Mehta G, Kumar P, Pandey SK, Ahmad AH. Effect of aqueous *Euphorbia hirta* leaf extract on gastrointestinal motility. Fitoterapia 2006;77(1):35–8.
22. Ashok BK, Bhat SD, Ravishankar B. Screening of intestinal transit time of *Euphorbia fusiformis* Buch.- Ham. ex D. Don in Swiss albino mice. IJNPR 2012;3(4):547–50.